

INDUÇÃO DO ENRAIZAMENTO *EX VITRO* EM PLANTAS DE  
ABACAXIZEIRO CV. VITÓRIA (*Ananas comosus* L. Merrill):  
PROCESSO FOTOSSINTÉTICO E MEDIDAS BIOMÉTRICAS

**MARCOS OLIVEIRA ATHAYDE**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

MAIO - 2012

INDUÇÃO DO ENRAIZAMENTO *EX VITRO* EM PLANTAS DE  
ABACAXIZEIRO CV. VITÓRIA (*Ananas comosus* L. Merrill):  
PROCESSO FOTOSSINTÉTICO E MEDIDAS BIOMÉTRICAS

**MARCOS OLIVEIRA ATHAYDE**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Eliemar Campostrini

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

MAIO – 2012

INDUÇÃO DO ENRAIZAMENTO *EX VITRO* EM PLANTAS DE  
ABACAXIZEIRO CV. VITÓRIA (*Ananas comosus* L. Merrill):  
PROCESSO FOTOSSINTÉTICO E MEDIDAS BIOMÉTRICAS

**MARCOS OLIVEIRA ATHAYDE**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como parte das exigências para obtenção do  
título de Doutor em Produção Vegetal.

Aprovada em 25 de Maio de 2012

Comissão Examinadora:

---

Pesquisador José Mauro de Souza Balbino (D.Sc., Fisiologia Vegetal) - INCAPER

---

Profa. Virginia Silva Carvalho (D.Sc., Fitotecnia) - UENF

---

Profa. Alena Torres Netto (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF

---

Prof. Eliemar Campostrini (D.Sc., Produção Vegetal) - UENF

(Orientador)

A Deus o Grande EU SOU;  
À minha irmã e esposa Leiliane;  
Às minhas filhas Larissa e Sarah;  
Ao meu filho, por herança, Adimilson.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que me criou para cumprir o seu propósito;

Aos meus pais Arnulpho e Nezir Athayde, muito obrigado pela dedicação e amor!

A Leiliane, esposa cuidadora e amorosa;

A Larissa e Sarah, filhas exemplares e amorosas;

Ao Adimilson pela amizade e amor;

Ao meu irmão Tadeu, pessoa especial, amigo, incentivador incansável em relação à educação continuada;

A Arnulfo, Maristela, Carlos e Luciana, meus irmãos amados;

Ao Centro Universitário São Camilo – Espírito Santo, na pessoa do Pe. João Batista Gomes de Lima, pelo incentivo à qualificação e cuidado profissional;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, por meio do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, pela oportunidade de realização do curso;

A Biofábrica Biomudas pela disponibilidade de infraestrutura física e de pessoal para a realização do trabalho;

Aos funcionários da Biofábrica Biomudas: João, Genilza, Carla e Ritielle, obrigado pela dedicação e apoio incondicional ao trabalho de tese!

Ao professor Eliemar Campostrini pela orientação, incentivo, amizade e por ensinar a colorir o trabalho;

À Dr<sup>a</sup> Alena Torres Netto, pela participação ativa no trabalho, pela amizade, paciência, carinho e motivação;

À professora Virginia Silva Carvalho, pelo incentivo e amizade;

Ao amigo Dr. Gilson Silva Filho, pelo apoio técnico-científico, incentivo e desprendimento;

Ao prof. Tarcisio Thiebaut, pelo acolhimento e incentivo;

A Madalena<sup>s</sup> Delarmelina pela amizade, carinho, fidelidade e amor fraterno;

A Edir Morosini pela amizade, carinho, fidelidade e amor fraterno;

A Claudia Soares Duque Estrada pela amizade, carinho e incentivo;

A Cintia Cristina Lima Teixeira pelo desprendimento, amizade e carinho.

A Rita, Carla Roberta, Michele Magalhães, João Avelar e Rosane pelo apoio e amizade;

A Ironete e Juliana pelo apoio no material bibliográfico e amizade;

A Solange Prado pela amizade e incentivo;

A Regina Helena<sup>s</sup> pela amizade, cuidado, carinho e incentivo;

A Willian Mariano pela amizade, cuidado, carinho e acolhimento;

Ao Anderson, Thiago e Omar pela presteza no auxílio às atividades do experimento e companheirismo;

Aos irmãos da PIBAVENI pelas orações de interseção ao Deus Poderoso;

A todas as pessoas que contribuíram de maneira direta ou indiretamente, para a construção desta tese.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE SÍMBOLOS.....</b>	vii
<b>RESUMO .....</b>	ix
<b>ABSTRACT.....</b>	xi
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	01
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	04
2.1. Aspectos Gerais da Cultura do Abacaxizeiro.....	04
2.2. Micropropagação .....	07
2.3. Regulador de Crescimento - Auxina .....	13
2.3. Aclimatização.....	18
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	27
<b>3.1. Material vegetal.....</b>	27
3.1.1. Fase de cultivo <i>In vitro</i> .....	27
3.1.2. Fase de cultivo <i>Ex vitro</i> .....	28
3.1.2. Determinação da temperatura, umidade relativa e luminosidade.....	29
<b>3.2. Características avaliadas.....</b>	31
3.2.1. Análises biométricas.....	31
3.2.1.1. Altura de planta.....	31
3.2.1.2. Diâmetro da roseta.....	31
3.2.1.3. Número de folhas.....	31
3.2.1.4. Área foliar.....	31

3.2.1.5. Massa fresca e seca.....	32
3.2.1.6. Massa foliar específica.....	32
3.2.2. Capacidade fotossintética e relações hídricas.....	32
3.2.2.1. Taxa fotossintética líquida, condutância estomática, transpiração e déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar.....	32
3.2.2.2. Fluorescência da clorofila <b>a</b> .....	33
3.2.2.3. Intensidade de cor verde das folhas.....	33
3.2.2.4. Conteúdo relativo de água.....	34
<b>3.3. Análises estatísticas.....</b>	<b>34</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1. Análises biométricas.....</b>	<b>40</b>
<b>4.2. Capacidade fotossintética e relações hídricas.....</b>	<b>57</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>73</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>74</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>91</b>



## LISTA DE SÍMBOLOS

A: Taxa Fotossintética Líquida

ABA: Ácido Abscísico

AF: Área Foliar

AIB: Ácido Indolbutírico

ANA: Ácido naftalenoacético

BAP: Benzilaminopurina

CRA: Conteúdo Relativo de Água

Cv: Cultivar

DAT: Dias Após o Transplântio

DPV<sub>folha-ar</sub>: Déficit de Pressão de Vapor entre a folha e o ar

DR: Diâmetro da Roseta

E: Transpiração

FFF: Fluxo de Fótons Fotossintéticos

F<sub>m</sub>: Fluorescência Máxima

FSII: Fotossistema II

F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>: Rendimento Quântico Máximo do Fotossistema II

F<sub>v</sub>: Fluorescência Variável

$g_s$ : Condutância Estomática

H: Altura da Planta

IV: Intensidade de Verde

MFE: Massa Foliar Específica

MFPA: Massa da Matéria Fresca da Parte Aérea

MFR: Massa da Matéria Fresca de Raiz

MS: Murashige e Skoog

MSPA: Massa da Matéria Seca da Parte Aérea

MSR: Massa da Matéria Seca de Raiz

NF: Número de Folhas

## RESUMO

ATHAYDE, Marcos Oliveira; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Maio de 2012. **Indução do enraizamento *ex vitro* em plantas de abacaxizeiro cv. Vitória (*Ananas comosus* L. Merrill): processo fotossintético e medidas biométricas.** Orientador: Professor Eliemar Campostrini.

O abacaxizeiro é cultivado em quase todos os estados do Brasil, apresentando um crescimento significativo de área plantada e produtividade nos últimos anos. Todavia, as cultivares utilizadas apresentam sensibilidade à doença denominada fusariose, fato que tem levado os programas de melhoramento genético do abacaxizeiro à obtenção de materiais resistentes a essa doença. Assim, em 2006 foi lançada a cultivar Vitória que apresenta uma resposta, no campo, de maior resistência à fusariose, além de outras características agrônômicas de interesse aos produtores e aos consumidores. Entretanto, para disponibilizar uma cultivar recém-lançada para os agricultores é fundamental a utilização de processo de produção de mudas eficiente. A micropropagação apresenta-se como um processo que pode acelerar a disponibilidade de mudas ao mercado. Entretanto, as mudas micropropagadas apresentam um elevado custo de produção, devido à estrutura laboratorial, insumos e mão de obra tecnicamente especializada. Sendo assim, o trabalho objetivou avaliar o efeito da

auxina-AIB no enraizamento e crescimento *ex vitro* do abacaxizeiro 'Vitória' (*Ananas comosus* L. Merrill), visando à supressão da fase de enraizamento *in vitro*. As brotações da cv. Vitória foram obtidas a partir do estabelecimento *in vitro* de gemas axilares, em meio contendo os sais minerais de MS (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 6 gL<sup>-1</sup> de ágar bacteriológico (Vetec®), 30 gL<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mgL<sup>-1</sup> de mio-inositol e 2 mgL<sup>-1</sup> do fitorregulador BAP (benzilaminopurina). Na aclimatização, utilizaram-se brotações com altura em torno de 2.5 cm oriundas da fase de multiplicação, no quarto subcultivo. O experimento foi montado no esquema fatorial 4x4x4, com 4 repetições. As brotações foram imersas em soluções de AIB (50, 75, 100, 125 µM), de acordo com os tempos de incubação (0, 20; 40; 60min.), avaliadas em dias após o transplântio (DAT) (45, 90, 135, 175 dias) e o tratamento controle foi representado por plantas sem raiz e não imersas em AIB. A coleta das plantas foi realizada de acordo com os DAT, quando foram realizadas as análises das características biométricas e de capacidade fotossintética/relações hídricas. Verificou-se a interação entre tempo de imersão e dias após o transplântio para as características avaliadas. Também, pode-se observar que controle não diferiu significativamente das concentrações de AIB em relação às características biométricas e de capacidade fotossintética/relações hídricas. Assim, pode-se inferir que o tempo de imersão das brotações, provenientes do cultivo *in vitro* nas diferentes soluções de AIB estudadas, não influenciou na capacidade de enraizamento das plantas da cv. Vitória, quando crescidas em condição *ex vitro*. Não houve efeito da aplicação de AIB nas concentrações 50, 75, 100 e 125µM sobre o enraizamento nas plantas cultivadas em condição *ex vitro*. Os tratamentos aplicados não causaram efeitos na capacidade fotossintética e nas medidas biométricas estudadas. Com base nos resultados obtidos nessa pesquisa, infere-se que, para a cv. Vitória pode-se realizar a indução de enraizamento na condição *ex vitro*, sem a presença de regulador de crescimento.

Palavras-chave: abacaxi, aclimatização, micropropagação, regulador de crescimento.

## ABSTRACT

ATHAYDE, Marcos Oliveira; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. May, 2012. ***Ex vitro* rooting induction in pineapple plants cv. Vitória (*Ananas comosus* L. Merrill): photosynthetic process and biometric measures.** Advisor: Professor Eliemar Campostrini.

The pineapple is cultivated in almost all states of Brazil, presenting a significant growth of planted area and productivity in recent years. However, cultivars show sensitivity to the disease called Fusarium, a fact that has led to breeding programs to obtain the pineapple materials resistant to the disease. Thus, was launched in 2006 the cultivate Vitória presents a response in the field, greater resistance to fusarium wilt, and other agronomic traits of interest to producers and consumers. However, to provide a cultivate recently released to farmers is essential to use the process of seedling production efficient. The micropropagation is presented as a process that can accelerate the market availability of seedlings. However, the plantlets have a high production cost due to the structure of laboratory supplies and technically specialized manpower. Thus, the study aimed to evaluate the effect of auxin-IBA on rooting and growth *ex vitro* of 'Vitória' pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill), aiming at the abolition of the rooting phase *in vitro*. The shoots of cv. Vitória were obtained from *in vitro* establishment of axillary buds, in a medium containing mineral salts in MS (Murashige and Skoog, 1962) supplemented with 6 gL<sup>-1</sup> agar (Bacteriological Vetec ®), 30 gL<sup>-1</sup> sucrose, 100

mgL<sup>-1</sup> of myo-inositol and 2 mgL<sup>-1</sup> of the plant regulator BAP (benzylaminopurine). In the acclimatization, we used shoot height of around 2.5 cm arising from the multiplication phase, the fourth subculture. The experiment was arranged in a factorial scheme 4x4x4, with four replications. Shoots were dipped in IBA (50, 75, 100, 125 mM), according to incubation times (0, 20, 40, 60 min.) Calculated in days after transplanting (DAT) (45, 90, 135, 175 days) and control treatment was represented by rootless plants and not immersed in IBA. The collection of plants was performed according to the DAT, when the analyzes were performed in biometric characteristics and photosynthetic capacity / water relations. There was interaction between immersion time and days after transplanting for the evaluated characteristics. Also, it can be noted that control was not significantly different in concentrations of IBA in relation to biometric characteristics and photosynthetic capacity / water relations. Thus, we can infer that the immersion time of the shoots, from cultivation *in vitro* in different IBA studied did not influence the rooting ability of cv. Vitória, when grown in *ex vitro* conditions. There was no effect of IBA concentrations 50, 75, 100 and 125 µM on rooting in plants grown in *ex vitro* conditions. The treatments did not affect the photosynthetic capacity and the biometric measurements studied. Based on the results obtained in this study, it appears that for cv. Vitória can be performed in the induction of roots *ex vitro* conditions, without the presence of a growth regulator.

Keywords: micropropagation, pineapple, growth regulators, acclimatization.

## 1. INTRODUÇÃO

A fruticultura é uma das importantes atividades do agronegócio brasileiro, e nesse contexto, o destaque especial está relacionado com a cultura do abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill), que anualmente, tem apresentado, no cultivo, um crescimento tanto no aspecto qualitativo, no quantitativo.

No ano de 2010, o Brasil produziu 1.443.224 toneladas de abacaxi, com o rendimento médio de 26.218 Kg ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2011).

No Brasil, as cultivares de abacaxi Pérola e Smooth Cayenne são as mais plantadas, todavia apresentam sensibilidade ao fungo *Fusarium subglutinans* causador da doença denominada fusariose. Em todo o território nacional, esta doença causa grandes prejuízos na cultura desta espécie, e muitos autores afirmam que as perdas podem variar de 30 a 40% na produção de frutos, e de 20% na produção de mudas.

Os programas de melhoramento genético têm visado à obtenção de materiais genéticos para o lançamento como variedades, plantas com características de resistência à fusariose e, com padrão de qualidade que atendam ao mercado consumidor.

No ano de 2006, o Incaper/ES, em parceria com o Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura/EMBRAPA, lançou a cultivar de abacaxizeiro 'Vitória', resistente à fusariose, e com características similares ou superiores às cultivares estabelecidas comercialmente. Esta cultivar mostrou ser uma nova

alternativa economicamente viável para os produtores e consumidores dos frutos do abacaxizeiro.

Para o processo de produção comercial do abacaxi a multiplicação se faz por meio de filhotes, filhotes-rebentões ou rebentos, coroa, de viveiro e micropropagadas. No campo, e ao final de 18 meses de cultivo, a taxa média de produção de mudas por planta é relativamente pequena, variando de três a seis mudas.

A disponibilidade e a qualidade de mudas de abacaxizeiro tornam-se fatores limitantes para os agricultores, uma vez que a redução na produtividade e a elevação no tempo de colheita do fruto são causadas pelo tipo de propagação utilizada. Assim, as técnicas de cultura de tecidos são alternativas bastante eficazes para contornar os obstáculos que atingem a propagação convencional de diversas espécies, inclusive do abacaxizeiro.

A micropropagação é amplamente estudada nas mais diversas espécies vegetais, sendo a modalidade cultura de tecidos, a que mais tem difundido, e encontrado aplicações práticas comprovadas. Entre as vantagens da utilização desta técnica, está a possibilidade de, independente da estação do ano, obterem-se várias plantas a partir de um explante inicial. Ainda, a redução do tempo e da área necessária à propagação da espécie é de extrema importância nesta técnica; bem como as melhores condições sanitárias por meio do cultivo de meristemas previamente tratados por termoterapia, para eliminação de doenças. Esta técnica permite ainda a reprodução da planta mãe, geralmente, com fidelidade durante a multiplicação da planta matriz.

Para algumas espécies, as vantagens da micropropagação necessitam ser traduzidas em menor custo de produção de mudas. Por isso, várias ações de pesquisa têm sido criadas para desenvolver tecnologias objetivando a redução do custo unitário de mudas. Como exemplo a adoção de práticas (uso de luz natural, esterilização química) e uso de equipamentos (biorreatores) no processo produtivo de mudas micropropagadas.

Nesse sentido, o abacaxizeiro se insere como uma espécie que apresenta a necessidade de minorar os custos de produção da micropropagação, uma vez que os valores da muda pagos pelo produtor podem variar em até 10 vezes mais, quando comparado ao valor da muda tradicional.



Com relação à micropropagação, no processo convencional do abacaxizeiro, o enraizamento dos explantes é feito no ambiente *in vitro*. Tal ação pode causar alguns comprometimentos morfofisiológicos, como raízes menos vigorosas, e com alterações anatômicas, bem como uma menor quantidade de pelos radiculares. Um outro fator importante do enraizamento *in vitro* é a elevação dos custos de produção por demandar uma elevação de tempo, espaço e recursos. Em contrapartida, as raízes formadas no ambiente *ex vitro* podem tornar-se mais rústicas, uma vez que estão sujeitas a uma maior flutuação dos fatores ambientes na casa de vegetação, como água, luz, temperatura e nutrientes. Nestas condições de cultivo, quando comparadas às plantas micropropagadas, as plantas cultivadas *in vitro* podem apresentar uma maior eficiência na absorção de água e nutrientes minerais.

O enraizamento *ex vitro* das plantas de abacaxizeiro micropropagadas pode reduzir o tempo e os custos de produção de mudas desta espécie, pois evita a elevação dos custos de manutenção e de produção, relacionados ao trabalho laboratorial, à utilização de reagentes de meios de cultura, às instalações de laboratório para a indução ao enraizamento, e energia.

Por outro lado as raízes desenvolvidas no ambiente *ex vitro* podem acelerar o crescimento das mudas e desta maneira diminuir o tempo de permanência destas em condição de casa de vegetação, bem como estas mudas podem apresentar um elevado desempenho quando cultivadas sob condição de campo.

Neste contexto, esta pesquisa avaliou o efeito da auxina-AIB sobre o enraizamento e crescimento *ex vitro* do abacaxizeiro 'Vitória', visando à supressão da fase de enraizamento *in vitro*. Para tanto, avaliou-se o efeito de diferentes concentrações do regulador de crescimento-AIB e diferentes tempos de imersão, no enraizamento *ex vitro*, verificando a influência na biometria e na capacidade fotossintética do abacaxizeiro 'Vitória'.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Aspectos Gerais da Cultura do Abacaxizeiro

O abacaxizeiro (*Ananas comusus* L. Merrill) 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 (Cunha e Cabral, 1999). Esta espécie é da classe monocotiledônea, é herbácea perene, e pertence à família Bromeliaceae. Em relação aos hábitos de crescimento, as espécies desta família podem ser divididas em epífitas e terrestres (Cunha e Cabral, 1999).

Esta planta pode apresentar o metabolismo do tipo CAM variável, comercialmente importante, e que tem sido extensivamente estudado em condições agrícolas. Dependendo das condições ambientais, por meio das alterações na intensidade da radiação, da temperatura e da disponibilidade de água, o abacaxizeiro mostra-se como metabolismo facultativo do tipo C3/CAM (Ting, 1985, Aragon et al., 2012).

Do ponto de vista econômico, o gênero *Ananas* é o mais importante da família Bromeliaceae, pois nele está incluído o abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill) e outras espécies que são utilizadas para a produção de fibras ou para ornamentação (Cunha e Cabral, 1999).

A abacaxicultura vem se tornando uma alternativa para pequenos e grandes agricultores, notadamente por ser uma fruteira com possibilidades de ganhos financeiros elevados. No entanto, existem diversos aspectos da produção que carecem de aperfeiçoamento e de pesquisa em nível nacional e regional (Freitas, 2010).

De acordo com um conjunto de características comuns, tais como porte da planta, número de filhotes e rebentões, comprimento da folha, presença de espinhos na folha, cor das folhas, peso e forma dos frutos, e dos frutinhos e sabor dos frutos, as cultivares mais plantadas no mundo são classificadas por grupos como Cayenne, Spanish, Quenn, Pernambuco e Pérola (Py et al., 1984; Cunha e Cabral, 1999).

O abacaxi é uma fruta tropical apreciada mundialmente pelo aroma e sabor acentuados. Além de apresentar propriedades medicinais, esta fruta tem alto valor nutritivo, sendo particularmente rica em sais minerais e vitaminas. O consumo pode ser feito *in natura* ou processado na forma de compota, geleia, sorvete, diferentes tipos de sobremesa e na indústria de confeitaria (Teixeira et al., 2001).

No Brasil, as duas cultivares de abacaxi mais plantadas são o *Smooth Cayenne*, destinado principalmente à indústria, e a cultivar Pérola, destinada ao consumo "*in natura*". Reconhecidamente adaptadas às condições edafoclimáticas das regiões produtoras, essas cultivares apresentam o inconveniente de ser altamente susceptíveis à fusariose, doença de maior importância para a cultura no país (Feitoza, 2010).

No ano de 2006, o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural – Incaper/ES lançou a cultivar de abacaxi Vitória que apresenta características agronômicas semelhantes ou superiores em relação às cvs. Pérola e Smooth Cayenne (usadas como referência). As plantas da cv. Vitória têm como vantagem a ausência de espinhos nas folhas, o que facilita os tratamentos culturais, além de apresentar resistência à fusariose, principal problema fitossanitário da cultura no país, que causa em média 30 a 40% de perdas na produção de frutos e aproximadamente 20% referente às mudas (Ventura et al., 2006).

A cv. Vitória apresenta frutos com polpa branca, elevado teor de açúcares (15,8 °Brix), excelente sabor e resistência ao transporte e em pós-colheita. O formato do fruto é cilíndrico; a casca de cor amarela na maturação, e pesa em torno de 1,5 kg. Os frutos podem ser destinados ao mercado de consumo *in natura* e/ou para a agroindústria (Ventura et al., 2006).

O abacaxizeiro possui características morfológicas, anatômicas e fisiológicas que lhe permite sobreviver em condições adversas (Feitoza, 2010).

Para produzir a primeira safra, o ciclo desta planta apresenta variação de 16 a 36 meses, dependendo da cultivar, das condições climáticas e do manejo da cultura (Cunha e Reinhardt, 2004).

Após o plantio, a quantidade das raízes produzidas pelo abacaxizeiro depende do tipo e do vigor da muda, e pode atingir a 1.50 m de profundidade. Durante os primeiros meses, este órgão se alonga, até o quarto ou quinto mês quando haverá emissões de novas raízes (Feitoza, 2010).

O sistema radicular do abacaxizeiro é do tipo fasciculado, superficial e fibroso. Geralmente, este sistema radicular é concentrado a uma profundidade em torno de 30 cm, e o metabolismo respiratório das raízes é facilmente comprometido pelo excesso de água, recomenda-se, assim o plantio desta espécie em solos drenados (Cunha e Cabral, 1999).

A partir do oitavo mês, mais de 94% do peso das raízes do abacaxizeiro encontrava-se nos primeiros 20 cm do solo, indicando que o sistema radicular apresentava-se bastante superficial (Inforzato et al., 1968).

O abacaxizeiro consiste de um caule curto e grosso, circundado por folhas em forma de canaleta, estreitas e rígidas, surgindo no caule raízes axilares (Cunha e Cabral, 1999).

Uma planta de abacaxi pode possuir de 70 a 80 folhas, as quais são rígidas, e cerosas na superfície, e são protegidas por uma camada de pelos (os tricomas). Estas estruturas são encontradas na superfície inferior destes órgãos, e podem reduzir a transpiração (Cunha e Cabral, 1999).

A propagação do abacaxizeiro é feita por meio de rebentos ou mudas, denominadas de filhotes, filhotes-rebentões, rebentões, coroa e seccionamento do talo. Os três primeiros tipos de rebentos desenvolvem-se a partir de gemas axilares e constituem ramos vegetativos com um novo meristema apical (Cunha e Reinhardt, 2004). O processo apresenta taxa de propagação natural baixa. Por essa razão, é imprescindível a utilização de outros meios de propagação, quando se quer grandes quantidades de mudas de uma determinada cultivar, em curto prazo.

O tempo de estabelecimento e proliferação das culturas de abacaxizeiro é considerado longo, pois a produção eficiente de plantas não é conseguida antes de 9 a 12 meses, depois do início do plantio (Pasqual et al., 1998). Além disso,

com relação à situação do material de plantio de abacaxi no Brasil, destaca-se a escassez de mudas de boa qualidade, e que tenham vigor e sanidade adequados para garantir um bom desenvolvimento inicial das plantas. Havendo, ainda, um risco de ocorrerem doenças, uma vez que as cultivares predominantes apresentam suscetibilidade à fusariose (Ventura, 1994 e 2006).

A demanda do material propagativo é muito grande, já que para o plantio de um hectare, são necessários de 35.000 a 70.000 mudas, dependendo do espaçamento usado (Ventura 1994). Assim, a micropropagação destaca-se como um método seguro quanto à manutenção das características genéticas do clone e à obtenção de um grande número de plantas saudáveis, de alta qualidade e em curto espaço de tempo (Freitas, 2010).

## **2.2. Micropropagação**

Para contornar os obstáculos que atingem a propagação convencional de diversas espécies, as técnicas de cultura de tecidos são alternativas bastante eficazes. Essas técnicas permitem o crescimento das células, tecidos ou órgãos isolados da planta mãe, em condições assépticas e controladas. Tais técnicas baseiam-se na totipotencialidade; isto é, cada célula vegetal contém toda a informação genética necessária para a regeneração de uma planta completa (Torres & Caldas, 1990). Para tanto, faz-se necessário a utilização de protocolos específicos para o processo de diferenciação.

A micropropagação é amplamente estudada nas mais diversas espécies vegetais, dentro da cultura de tecidos (CT), sendo a modalidade mais difundida e encontradas aplicações práticas comprovadas (Grattapaglia & Machado, 1998). Entre as vantagens da utilização da CT, está a possibilidade de obterem-se várias plantas a partir de um explante inicial, independente da estação do ano. Outras vantagens são a redução do tempo e da área necessária à propagação da espécie; as melhores condições sanitárias por meio do cultivo de meristemas previamente tratados por termoterapia (eliminação de doenças); a reprodução do genótipo da planta mãe, geralmente, com fidelidade durante a multiplicação e a

propagação vegetativa de espécies difíceis de ser propagadas por outros métodos (Erig e Schuch, 2005).

Apesar de a micropropagação ser amplamente difundida e apresentar vantagens em relação aos métodos tradicionais de propagação, para algumas espécies, o emprego desta técnica em escala comercial é mais oneroso (Erig e Schuch, 2005). Para contornar esta situação, é crescente a preocupação de produtores e pesquisadores com o desenvolvimento de tecnologias de baixo custo, como adoção de uso de luz natural, esterilização química e de biorreatores.

No processo de cultivo *in vitro*, os explantes são inoculados em recipientes vedados, visando prevenir micro-organismos contaminantes, reduzir a dessecação dos tecidos e a evaporação da água do meio de cultura. Contudo, esta vedação pode restringir a troca de gases entre o interior do recipiente e a atmosfera externa.

De acordo com Zobayed et. al. (1999), a micropropagação tradicional utilizada no processo produtivo se caracteriza por proporcionar um ambiente com alta umidade relativa, baixa disponibilidade de gás carbônico, além do acúmulo de etileno e outras substâncias tóxicas.

Para a produção comercial, os explantes são cultivados sob baixos níveis de irradiância variando de 15 a 75  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  e concentrações de sacarose no meio de cultura, comumente, variando entre 20 e 30  $\text{gL}^{-1}$  (Kitaya et al., 1995; Kodym & Zapata-Arias, 1999). Nessas condições, as plântulas propagadas *in vitro* encontraram condições ambientais desfavoráveis para a fotossíntese, possuem metabolismo do carbono predominantemente heterotrófico ou fotomixotrófico, sendo a sacarose no meio de cultura a única, ou principal fonte de carbono e energia para o seu crescimento e desenvolvimento. Sendo assim, considerada de importância primária para organogênese *in vitro*, constituindo substrato para o crescimento e o desenvolvimento, influenciando o ciclo celular e os processos de diferenciação (Vaz et al., 1998) .

Vários estudos têm provado que, se o ambiente de cultivo for controlado para que as condições sejam mais semelhantes às da casa de vegetação ou do campo (Cui et al.,2000), as plantas *in vitro* podem apresentar uma capacidade fotossintética que permita assimilar carbono de maneira satisfatória, reduzindo ou

eliminando o requerimento da sacarose ou de qualquer outro açúcar no meio de cultura para o crescimento.

Diversos trabalhos fundamentam que o cultivo de plantas sob altas concentrações de sacarose (20–30 g.L<sup>-1</sup>) resulta no acúmulo de açúcares solúveis, principalmente sacarose, e de amido na folha, inibe a síntese de Rubisco e de clorofila e, conseqüentemente, reduz as taxas fotossintéticas (Deng & Donnelly, 1993; Chenevard et al., 1997; Kanechi et al., 1998; Adelberg et al., 1999).

Os estudos desenvolvidos para determinar os efeitos desses fatores ambientais, tais como a composição gasosa, o metabolismo fotossintético e a morfologia das plantas micropropagadas recomendam o aprimoramento das técnicas utilizadas no processo de produção biotecnológica, visando à garantia da qualidade das mudas (Kozai et al., 1997; Bag et al., 2000). Sendo assim, a utilização da sacarose poderia ser um dos constituintes a ser reduzidos ou em algumas vezes suprimidos, uma vez que, além do aspecto metabólico discutido essa contribui para elevar o custo de produção, por meio da contaminação das culturas (Serret et al., 1997).

Segundo os trabalhos de Kozai et al. (1997) e Khan et al. (2002), quando comparada aos sistemas convencionais de micropropagação (heterotrófico ou fotomixotrófico), a micropropagação fotoautotrófica apresenta inúmeras vantagens, uma vez que promove maior crescimento e desenvolvimento *in vitro*, diminui o nível de contaminação biológica, permite a utilização de grandes recipientes; reduz a dependência de reguladores de crescimento, vitaminas e outras substâncias orgânicas, simplifica os meios de cultura; reduz as desordens morfofisiológicas e pode aumentar a taxa de sobrevivência, além de promover o rápido e vigoroso crescimento das plantas durante a aclimatização. Assim, os custos de produção, principalmente com laboratório, podem ser reduzidos, permitindo a automação dos processos de micropropagação, e a qualidade da planta pode ser significativamente melhorada (Hazarika, 2003).

O aumento na capacidade fotossintética das plantas, por meio do estabelecimento do metabolismo fotoautotrófico *in vitro* pode favorecer a sobrevivência e o crescimento das plantas após a transferência para o ambiente *ex vitro*, reduzindo assim o período de aclimatização (Kanechi et al., 1998;

Hoffmann, 1999). Na condição de pré-aclimatização fotossintética *in vitro*, as folhas formadas no ambiente *in vitro* não constituem apenas órgãos de reserva, mas podem desempenhar uma importante função durante a aclimatização, contribuindo por meio do processo fotossintético, para a sobrevivência e para o crescimento da planta, até que as novas folhas no ambiente *ex vitro* sejam formadas (La Viña et al., 1999).

As plantas fotoautotróficas apresentam melhores características morfoanatômicas (Adelberg et al., 1999), com o melhor desenvolvimento do sistema radicular; maior diferenciação do parênquima paliçádico e menor proporção de espaços intercelulares; cutículas mais espessas, com maior deposição de cera epicuticular; redução na densidade de estômatos e melhoria de seu funcionamento (Dimassi-Theriou & Bosabalidis, 1997; Khan et al., 2003). Estas características podem prevenir o desenvolvimento do estresse hídrico durante a aclimatização (Serret et al., 1997), visto que conferem às plantas maior capacidade de controlar a transpiração, impedindo a excessiva perda de água, e maior capacidade para o seu fluxo no sentido ascendente (Zobayed et al., 2000a).

Ziv (1995) afirma que plantas micropropagadas em frascos que não permitem as trocas gasosas podem apresentar elevada transpiração cuticular e estomática. Nestas condições de ausência de trocas gasosas, os estômatos estão frequentemente abertos (Preece e Sutter, 1991).

O crescimento e o desenvolvimento dos explantes não dependem somente da composição de nutrientes do meio de cultura, mas, também, são afetados pelas condições da composição gasosa da atmosfera no interior do recipiente de cultivo *in vitro* (Zobayed et al., 1999) e intensidade de luz (Ibaraki e Nozaki, 2005). Sob essas condições, a fotossíntese, a transpiração e a absorção de água e nutrientes são inibidas, enquanto a respiração no escuro é elevada, resultando em poucas brotações e baixo crescimento das plântulas durante o cultivo *in vitro*, além de desordens morfológicas e fisiológicas celulares, de tecidos e órgãos (Chenevard et al., 1997).

Por outro lado, no campo, a taxa média de produção de mudas por planta de abacaxizeiro é relativamente pequena, variando de 3 a 6 mudas, ao final de 18 meses de cultura. Nesta condição, a disponibilidade e qualidade de mudas tornam-se fatores limitantes para os agricultores, pois estas mudas podem formar



pomares menos produtivos e com tempo de colheita prolongado (Ventura et al., 2006).

Embora as mudas sadias de abacaxizeiro possam ser obtidas com o uso da técnica de multiplicação rápida em viveiros, usando o seccionamento do caule das plantas (Reinhardt et al., 2000), a utilização da técnica de micropropagação é uma alternativa viável, podendo ser adotada não-somente na produção de mudas sadias das cultivares comerciais, mas também, para o lançamento de novos genótipos de interesse socioeconômico.

O processo de micropropagação envolve várias etapas, começando com a coleta das mudas de plantas de abacaxizeiro selecionadas no campo, passando pela extração das gemas axilares, cultivo e regeneração das plântulas, as quais são, em uma segunda etapa, inoculadas em meio de multiplicação. Após essa fase, os brotos são cultivados em meio próprio para alongamento/enraizamento. Finalmente, as plântulas são transferidas para casa de vegetação para que ocorra a aclimação, e assim possa otimizar o crescimento no ambiente *ex vitro* (Teixeira et al., 2001).

Em busca de protocolos eficientes para os diversos estádios de crescimento do abacaxizeiro micropropagado, alguns autores utilizaram diferentes metodologias, variando o sistema de produção, a composição do meio de cultivo, adicionando ou suprimindo compostos e princípios químicos, tipos de explantes ou alterando as condições do ambiente externo ou interno ao frasco de cultivo.

Quanto à composição do meio, o efeito do ANA (ácido naftalenoacético) e do AIA (ácido 3-indolacético) foi testado no estiolamento *in vitro* do abacaxi cv. Pérola (Praxedes et al., 2001). Neste trabalho, os autores utilizaram sete tratamentos caracterizados por doses dos reguladores de crescimento e após 30 dias de cultivo concluíram que o estiolamento para a cultivar estudada poderia ser obtido sem a aplicação exógena de ANA e AIA.

As plantas da cv. Smooth Cayenne foram submetidas a diferentes diluições dos macronutrientes do meio MS, visando à possibilidade de utilizar meios de cultura mais diluídos, sem prejudicar o crescimento das plantas (Tamaki et al., 2007). Os autores sugeriram que o abacaxizeiro cv. Smooth Cayenne pode ser cultivado *in vitro* na diluição MS/5, sem apresentar diferenças significativas em

relação ao crescimento das plantas cultivadas no meio MS completo, possibilitando uma redução de custos.

A resposta *in vitro* do abacaxizeiro foi, também, comparada em diferentes sistemas de micropropagação, representados pelo método convencional (meio sólido e líquido) e tipos de biorreatores (imersão temporária e contínua). Verificou-se que o sistema de biorreatores com imersão temporária foi o mais eficiente para a propagação em larga escala do abacaxizeiro (Silva, 2006).

No sistema de biorreator por imersão temporária, a multiplicação do abacaxizeiro promoveu melhor desempenho das plantas de abacaxi, em ambiente autotrófico *in vitro*. Nessas condições, as plântulas apresentaram significativo aumento da área foliar, da massa seca e do teor de clorofila, o que incrementou o crescimento durante o processo de aclimatização (Gonzalez-Olmedo et al., 2005).

Os efeitos do emprego da luz natural e artificial foram avaliados em relação à anatomia e ao crescimento *in vitro* de mudas de abacaxizeiro (Silva, 2006). Neste trabalho, concluiu-se que o emprego da luz natural na micropropagação de abacaxizeiro é viável, principalmente, na fase de enraizamento, por produzir plântulas maiores e mais adaptadas em termos de estrutura anatômica, ao processo de aclimatização.

Carvalho et al. (2009) multiplicaram *in vitro* o abacaxi ornamental *Ananas comosus* var. *erectifolius*, induzindo o estiolamento de segmentos nodais e posterior regeneração de brotações, em que os melhores tratamentos foram a utilização de 10  $\mu\text{M}$  ANA para o estiolamento dos brotos, seguido de BAP a 4,44  $\mu\text{M}$  para a regeneração das brotações.

Guerra et al. (1999), testaram dois genótipos de abacaxizeiro 'Pérola' e 'Primavera', com seis combinações dos fitorreguladores ANA (ácido naftalenoacético) e BAP (6-benzilaminopurina), e os meios de cultura líquido e geleificado, com o objetivo de estabelecer um protocolo regenerativo para a micropropagação da espécie. Segundo os autores, o meio MS líquido acrescido de ANA a 2,7  $\mu\text{M}$  e BAP a 4,4  $\mu\text{M}$  proporcionou uma taxa média de regeneração de 19,7 brotos/explante, e foi superior às demais combinações.

Em diferentes concentrações de reguladores de crescimento (BAP e ANA) *in vitro*, a avaliação do crescimento de plantas de abacaxizeiro cv. Gold mostrou que o meio de multiplicação contendo 2,0  $\text{mg L}^{-1}$  de BAP + 0,50  $\text{mg L}^{-1}$

de ANA foi o mais eficiente na micropropagação dessa cultivar. Na aclimatização, esse tratamento apresentou maiores eficiências nas trocas gasosas e na produção de folhas (Toyoda et al., 2010).

Em outro estudo com a cv. Gold a taxa de multiplicação do abacaxizeiro cv. Gold foi avaliada sob diferentes concentrações dos mesmos reguladores de crescimento. Nesse caso, o meio de multiplicação contendo  $8,88 \mu\text{mol L}^{-1}$  de BAP +  $2,68 \mu\text{mol L}^{-1}$  de ANA mostrou-se o mais eficiente na propagação vegetativa *in vitro* desta cultivar, apresentando o maior número de plantas formadas, e maior massa fresca total (Couto et al., 2010a).

A maioria dos trabalhos com micropropagação de abacaxizeiro refere-se ao estabelecimento e à composição dos meios de cultura. Entretanto, faz-se necessário considerar o número de plantas regeneradas, e o efeito do enraizamento na fase de aclimatização. Nesse contexto, vale considerar que a capacidade de proliferação e o rendimento de mudas obtidas são fortemente influenciados pelo genótipo utilizado, pela composição do meio de cultura, pelas condições de crescimento *in vitro* e a aclimatização (Folliot e Marchall, 1990).

Enfim, o estabelecimento de um protocolo de micropropagação de abacaxizeiro é dependente de uma gama de fatores bióticos e abióticos que afetam direta ou indiretamente a adaptação às condições *ex vitro*, uma vez que as plântulas *in vitro* comumente se desenvolvem em condições heterotróficas (Batagin et al. 2009).

Assim, a técnica de micropropagação do abacaxizeiro necessita de ajustes procedimentais para minorar custos de produção em escala comercial.

### **2.3. Regulador de Crescimento - Auxina**

Os hormônios são mensageiros químicos, produzidos em uma célula ou em um tecido e que modulam os processos celulares em outra célula, interagindo com proteínas específicas denominadas receptores (Taiz e Zeiger, 2010). De acordo com estes autores e Kerbauy (2004), a promoção do crescimento em caules e coleóptilos e a inibição do crescimento nas raízes são os efeitos fisiológicos mais estudados da auxina. Além das funções no crescimento e nos

tropismos, a auxina participa na regulação da dominância apical, na iniciação das raízes laterais, na abscisão foliar, na diferenciação vascular, na formação de gemas florais, na filotaxia e no desenvolvimento do fruto (Taiz e Zeiger, 2010). Os hormônios ou reguladores vegetais atuam por meio da alteração nas concentrações e nas mudanças da sensibilidade das células receptoras a estes compostos (Ori, 2006).

A auxina pode entrar nas células vegetais por meio da difusão passiva da forma protonada (AIAH), de qualquer direção, pela bicamada lipídica; por transporte secundário ativo da forma dissociada (AIA<sup>-</sup>) por um transportador de 2H<sup>+</sup>-AIA<sup>-</sup> do tipo simporte. As duas rotas de absorção da auxina ocorrem porque a permeabilidade passiva da membrana à auxina depende fortemente do pH apoplástico (Taiz e Zeiger, 2010; Leyser, 2010).

Na região de alongamento de uma planta sadia normal, o nível de auxina endógena está próximo do ótimo para o crescimento da planta. A aspersão da planta com auxina exógena resulta em um modesto e breve estímulo no crescimento (Taiz e Zeiger, 2010). A ação da auxina exógena sobre a planta, na interação, para o crescimento e a morfogênese, depende da concentração endógena da auxina AIA (Pasqual, et al., 2008).

As auxinas são fitormônios fotodegradados, e, assim, o aumento da radiação no ambiente de casa de vegetação pode reduzir a concentração endógena e promover menor crescimento e desenvolvimento das raízes (Braga et al., 2011). Mesmo assim, diversas espécies, principalmente as herbáceas, enraízam na presença de níveis muito reduzidos de auxina ou na sua ausência (Grattapaglia e Machado, 1998).

A aplicação de reguladores de crescimento constitui uma das formas usuais de induzir a organogênese em plantas, pois permite direcionar o balanço hormonal, visando à aplicação do órgão desejado.

Em estudos de enraizamento adventício, o grupo de reguladores de crescimento mais usado é o de auxinas, tais como o ácido indolbutírico (AIB) e o ácido naftalenoacético (ANA) (Hartmann et al., 1990).

A rizogênese ocorre de uma a três semanas e pode ser dividida em indução, iniciação e alongamento de raízes. Enquanto as duas primeiras fases

respondem ou dependem de auxina, o crescimento das raízes é inibido pela presença de auxina (Grattapaglia e Machado, 1998).

Em comparação ao alongamento de ramos, as auxinas exógenas promovem alongamento de raízes em concentrações muito baixas, entretanto, o excesso de auxina inibe o crescimento de raízes, talvez não por ação direta, mas mediando a produção de etileno, pela presença do excesso de auxina (Tanaka et al., 2003).

O etileno pode aumentar o número de raízes adventícias, mas inibe a emergência e o alongamento destes órgãos, entretanto, durante o maior período de enraizamento, as estacas tratadas com AIB produziram mais etileno e os precursores deste fitormônio gasoso, do que aquelas tratadas com AIA. Os autores sugeriram que o efeito estimulante do enraizamento foi associado com a indução da biossíntese de etileno (Ludwig-Muller, 2000).

Quando submetidas ao processo de enraizamento adventício, as plantas apresentam respostas diferentes. Enquanto certas espécies têm facilidade de formar raízes adventícias, outras as emitem regularmente, e outras ainda demonstram grande dificuldade no enraizamento adventício das estacas (Tofanelli, 1999). Vários fatores exercem influência direta ou indireta sobre este processo, podendo o efeito regulatório pelo balanço hormonal endógeno ser considerado como o principal fator, favorecendo o enraizamento na presença de maiores teores de auxina (Skoog e Miller, 1957).

A iniciação de raízes laterais e raízes adventícias é estimulada por níveis adequados de auxina. E ainda, as auxinas podem promover a formação de raízes adventícias a partir de vários tecidos por agregação de células maduras. Essas células desenvolvem-se em meristema apical de raiz, de maneira análoga à formação de um primórdio de raiz lateral, que surge de uma divisão celular no periciclo (Taiz e Zeiger, 2010).

A formação de raízes adventícias de plantas cultivadas *in vitro* pode surgir de células indiferenciadas de parênquima, por ação de alguns reguladores de crescimento indutores de enraizamento, como os ácidos naftalenoacético, indolacético ou indolbutírico (Barbosa et al., 2003). O regulador de crescimento AIB (ácido indolbutírico) é o mais indicado para o enraizamento de estacas, pois não apresenta toxicidade em uma larga faixa de concentração, além de

apresentar baixa mobilidade e maior estabilidade química nas estacas (Cunha et al., 2004).

O ácido indolbutírico–AIB pode melhorar o enraizamento por meio do incremento da concentração do AIB livre interno, ou pode modificar a ação sinérgica do AIA ou da síntese endógena de AIA. E ainda, o AIB pode melhorar a sensibilidade dos tecidos para o AIA e aumentar o enraizamento (Hartmann et al., 2011).

A auxina endógena AIA atua como um ativador de genes, promovendo a formação precoce do primórdio radicular, e a aplicação de auxinas sintéticas favorece a conjugação entre o AIA endógeno e aminoácidos que promovem a síntese de proteínas específicas para a formação de raízes iniciais (Souza e Pereira, 2007).

Em estacas de muitas espécies de plantas, a aplicação de AIB resulta em indução de raízes adventícias, e, em muitos casos, esta aplicação é mais eficientemente do que o AIA (Ludwig-Muller, 2000).

Na base de estacas de feijão, verificou-se que o AIB aplicado foi translocado para a parte superior das estacas e rapidamente metabolizado em AIB-conjugado. Esse AIB-conjugado apresentou concentração superior ao AIB livre, servindo como uma fonte de auxina durante as últimas etapas do enraizamento (Hartmann et al., 2011).

As estacas de *Tectona grandis* submetidas às soluções de ANA e AIB, apresentaram alteração metabólica, significativamente para AIB, que aumentou o nível de açúcar solúvel, amido, proteína, e atividade da peroxidase na zona de enraizamento (Husen, 2007).

Plantas de *Malus zumi* foram retiradas da fase de multiplicação *in vitro* e submetidas ao enraizamento *ex vitro*. Nesta condição, as plantas foram imersas em soluções de AIA, ANA e AIB. A maior taxa de enraizamento (86%), após 30 dias, foi obtida com AIB 120 mgL<sup>-1</sup> por 2h ( Xu, 2008). Em plantas de *Gypsophila paniculata*, quando imersas na solução de 100 mgL<sup>-1</sup> de AIB, enraizaram 100%, na condição *ex vitro* (Radmann, et al., 2001).

Comparando o comprimento da maior raiz de *Sapium glandulatum*, verificou-se uma pequena tendência de aumento em tamanho, conforme aumentava a dose de AIB. Os autores mostraram que maiores concentrações do

regulador promoveram uma maior velocidade de emissão de raízes, e comprimento total de raízes (Cunha et al., 2004).

A utilização de auxina AIB no meio de cultivo da bromeliaceae *Aechmea blanchetiana* promoveu, nas raízes, acúmulo de carbono na forma de carboidratos solúveis, sugerindo que as auxinas apresentam função importante no crescimento de bromélias cultivadas *in vitro* (Chu et al., 2010).

As brotações de abacaxizeiro cultivadas em meio MS suplementado com ANA (0,96  $\mu\text{M}$ ) e AIB (1,96  $\mu\text{M}$ ) dispensaram a necessidade de um estágio de enraizamento *in vitro* e, conseqüentemente, eliminaram a necessidade de repicagem e anteciparam a fase de aclimatização (Guerra et al., 1999).

Wodecki e Holcomb (1989), citados por Cuquel et al. (1992) obtiveram aumento da velocidade para o enraizamento de estacas de crisântemo com o tratamento rápido (5 seg.) em solução de 1.000; 2.000; 4.000 ppm de AIB. Dentre esses, o tratamento a 1.000 ppm de AIB levou à maior precocidade de formação de raízes.

Em relação ao enraizamento, a resposta de estacas do crisântemo cv. White Reagan 606, imerso em solução aquosa contendo três concentrações de IBA (500; 1000; 1500 ppm) e três exposições de tempo (5 seg.; 60 min.; 120 min.), resultou em efeitos linearmente decrescentes para as três dosagens estudadas em relação ao aumento de tempo de imersão (Cuquel et al., 1992).

A indução do sistema radicular em microestacas da goiabeira serrana oriunda de cultivo *in vitro* em condição *ex vitro* sob diferentes níveis de AIB (0; 10; 100  $\mu\text{M}$ ) e diferentes períodos de indução (0; 60min.), resultou no aumento do número de raízes e um melhor estado funcional do sistema radicular no tratamento com AIB (100  $\mu\text{M}$ ) por 60min. Esses resultados demonstram que o enraizamento dos eixos caulinares obtidos *in vitro* pode ocorrer em condições *ex vitro*, o que pode eliminar um dos estágios do protocolo regenerativo e, com isso, reduzir o tempo, e o custo de produção destas mudas (Oltamari et al., 2000).

## 2.4. Aclimatização

O termo aclimatização é um processo no qual as plantas se tomam ajustadas a um novo clima ou situação, como resultado de um processo essencialmente natural (Guerra e Nodari, 2012). Entretanto, na micropropagação, a aclimatização trata dos processos para a passagem da planta que está *in vitro* para o ambiente *ex vitro*, sendo todo esse processo realizado artificialmente.

Na condição *in vitro*, a alta umidade relativa do ar no interior do recipiente de cultivo (próxima de 100%) e a baixa irradiância são os dois principais fatores que provocam alterações significativas na estrutura e no funcionamento dos tecidos, provocando dificuldade às plantas produzidas *in vitro* de controlar a perda de água quando submetidas às condições do ambiente natural (Fuchigami et al., 1981; Preece & Sutter, 1991; Khan et al., 2003).

As mudas micropropagadas, em função de baixa taxa de crescimento *in vitro* e da reduzida capacidade fotossintética e de regulação da perda de água, são extremamente vulneráveis. Assim sendo, requerem um período de aclimatização que ocorre com a transferência e permanência em um ambiente natural ou em um ambiente de transição, como a casa de vegetação ou telado (Lakso et al., 1986; Lee et al., 1985). Durante o período de aclimatização, as plantas são submetidas à transição gradual do ambiente, de forma que os fatores do ambiente não comprometam os processos metabólicos, e desta maneira, não resultem em danos severos no metabolismo, com finalização em morte da planta. Dessa forma, o processo de aclimatização tem sido considerado essencial e crítico para um sistema de micropropagação bem-sucedido (Chenevard et al., 1997; Myashita et al., 1996; Nguyen et al., 1999; La Viña et al., 1999; Hoffmann, 1999; Kodym e Zapata-Arias, 1999; Pospisilová et al., 1999; Bag et al., 2000).

A sobrevivência e o crescimento das mudas, após a transferência para a casa de vegetação ou campo dependem do manejo adequado dos diversos fatores envolvidos na adaptação da planta à mudança ambiental e da formação de novas estruturas, principalmente folhas, mais adaptadas às novas condições ambientais (Carvalho & Amâncio, 2002; Poethig, 2010). Os principais fatores envolvidos na aclimatização das mudas micropropagadas são o genótipo, a



infecção por patógenos, o estresse hídrico, o estresse pela luz e, principalmente, a alteração do metabolismo heterotrófico (*in vitro*) para fotoautotrófico (*ex vitro*) (Lee et al., 1985; Díaz-Pérez et al., 1995; Kanechi et al., 1998; Hoffmann, 1999).

As alterações morfofisiológicas reduzem a capacidade de sobrevivência e de crescimento das plantas micropropagadas na fase de aclimatização, devido à carência em suprir a necessidade de energia e carbono por meio da fotossíntese, além de não controlar eficientemente os processos de perda e absorção de água, (balanço hídrico desfavorável) (Zobayed et al., 1999).

Na fase de aclimatização, as plântulas estão submetidas a uma mudança drástica, quando estas são removidas dos frascos onde a luz e as trocas gasosas são limitadas, e existe grande disponibilidade de açúcar. Essa passagem do ambiente heterotrófico para o ambiente autotrófico exige grande gasto de energia (Guerra e Nodari, 2012).

A produção de antioxidantes não-enzimáticos, bem como as atividades de enzimas antioxidantes, formadas durante a fase *in vitro*, são essenciais para o sucesso na fase de aclimatização (Batková et al., 2008).

Na aclimatização há possibilidade de correção das alterações morfofisiológicas induzidas *in vitro* e, assim garantir a sobrevivência das plantas após a transferência (Capellades et al., 1990; Seko & Nishimura, 1996; Chenevard et al., 1997; Bag et al., 2000).

Durante os estágios de multiplicação e enraizamento, há necessidade do controle ambiental para um rápido e uniforme crescimento de mudas micropropagadas de alta qualidade (Miyashita, et al., 1996). Porém, torna-se fundamental o conhecimento de todas as interações entre as condições ambientais e as respostas morfofisiológicas das plantas micropropagadas.

Conforme relatado, as alterações na morfologia, anatomia e fisiologia de plântulas cultivadas *in vitro* podem ser corrigidas durante o período de aclimatização *ex vitro*, entretanto, muitas espécies de plantas necessitam de mudanças graduais nas condições ambientais *ex vitro*, visando evitar perdas por dissecação e fotoinibição (Pospisilová, et al., 1999, Carvalho et al., 2002).

De acordo com Marin & Gella (1988), a perda de vigor observada nas plantas após a transferência para a casa de vegetação, deve-se à baixa eficiência na troca do metabolismo heterotrófico (com dependência total de uma fonte

externa de carbono) para o metabolismo fotoautotrófico (com dependência total da fotossíntese).

Na fase de aclimatização, as condições de cultivo *in vitro* podem definir a eficiência fotossintética tais como a eficiência fotoquímica, o rendimento quântico do fotossistema II e a taxa fotossintética líquida (Pospisilová, et al., 1999). Esses autores afirmam que rusticificação das plantas dá-se mediante a diminuição da umidade do ar, por exemplo, usando tampas permeáveis para vapor d'água e gases; aumento da irradiância ou o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> por ventilação forçada, visando diminuir o murchamento das plantas após o transplântio (Pospisilová, et al., 1999).

Segundo Vallikhan et al. (2003), durante a fase de aclimatização, e após 30 min de transferência, as folhas das plantas cultivadas no meio fotomixotrófico murcharam acentuadamente, enquanto aquelas produzidas no meio autotrófico murcharam parcialmente. Isso demonstra claramente a dificuldade das culturas fotomixotróficas em resistir à dissecação.

De acordo com Amâncio et al. (1999), baseado na resposta das variáveis relacionadas com a fotossíntese das folhas formadas *in vitro* durante a aclimatização, as espécies micropropagadas podem ser classificadas em competentes e não-competentes. Nas espécies não-competentes, a capacidade fotossintética das folhas formadas *in vitro* permanece baixa durante a aclimatização. Até que as novas folhas sejam formadas, grande parte do requerimento de energia para os processos de manutenção e crescimento, inclusive para a formação das folhas, é suprido pela mobilização dos carboidratos produzidos e armazenados nos propágulos durante a fase de enraizamento. De maneira geral, as folhas formadas *in vitro* atuam apenas como órgãos de reserva. Nas espécies competentes, as folhas formadas *in vitro* aumentam a capacidade fotossintética durante a aclimatização, e permanecem na planta por períodos mais longos, desempenhando importante função, não-somente como fonte de reserva para a formação de novas folhas, mas também contribuindo, por meio da fotossíntese, para o balanço positivo de carbono para a planta.

Porém, na maioria das espécies, a atividade fotossintética das folhas formadas *in vitro* é baixa durante a aclimatização, sendo necessária rápida formação de novas folhas, com maior capacidade fotossintética, para a

sobrevivência e o crescimento das plantas, visto que os carboidratos armazenados são completamente consumidos nos primeiros dias de aclimatização. Entretanto, a formação das folhas depende da atividade das gemas, a qual é influenciada por fatores físicos, químicos e fisiológicos antes e durante a aclimatização (Chenevard et al., 1997).

As características fotossintéticas, também, desempenham influência marcante sobre a sobrevivência e o crescimento das plantas micropropagadas após a transferência. De acordo com Serret et al. (1996), os explantes cultivados *in vitro* apresentam estruturas e fisiologia do aparelho fotossintético modificadas, resultantes, principalmente, dos baixos níveis de irradiância, limitada disponibilidade de CO<sub>2</sub> e elevada concentração de sacarose no meio da cultura. Esses fatores atuam em combinação, resultando em plantas com atividade fotossintética insuficiente para promover o crescimento, tanto *in vitro* quanto na aclimatização (La Viña et al., 1999; Carvalho et al., 2002).

O aumento na capacidade fotossintética das plantas, e o estabelecimento do metabolismo fotoautotrófico podem favorecer a sobrevivência e o crescimento das plantas após a transferência, reduzindo o período de aclimatização *ex vitro* (Kanechi et al., 1998; Hoffmann 1999). As folhas formadas *in vitro* não constituem apenas órgãos de reserva, mas desempenham importante papel durante a aclimatização, contribuindo, por meio da fotossíntese para a sobrevivência e o crescimento da planta até que as novas folhas sejam formadas (La Viña et al., 1999).

Na fase de enraizamento, os estudos com plântulas de *Gardenia jasminoides* L. mostraram desenvolvimento fotoautotrófico acentuado em relação àquelas da fase de multiplicação (Serret et al., 1997). Contudo, para plântulas de kiwi, o cultivo fotoautotrófico promove a formação de um aparelho fotossintético com elevado teor de clorofila e de Rubisco. E ainda, apresentam os estômatos funcionais que suportam o transplante para a condição *ex vitro* (Arigita et al., 2002).

A diferença significativa entre as culturas fotoautotróficas e fotomixotróficas deu-se em relação à formação de raízes laterais e em brotos axilares de *Paulownia fortune* L. (Vallikhan et al., 2003). Esses autores verificaram que mais de 78% dos brotos enraizaram sob a condição autotrófica, enquanto os

brotos originários da condição fotomixotrófica tiveram que ser cultivados em meio específico para enraizamento. Entretanto, Adelberg et al.(1999) trabalhando com melão triploide verificaram que, após 21 dias de cultivo, as plantas cultivadas nas condições fotoautotróficas e fotomixotróficas tiveram a mesma frequência de enraizamento na casa de vegetação (47%).

Por outro lado, os fatores que aumentam a capacidade das plantas para transportar água, como a presença de raízes ou a eficiência dessas raízes, podem ser tão importantes quanto a regulação da perda de água pelos estômatos ou através da cutícula (Shackel et al., 1990).

Diversos autores têm discutido a funcionalidade das raízes emitidas *in vitro* após a transferência das plantas para o ambiente natural, em função do sistema radicular adventício emitido em ágar ou produto equivalente ser, em geral, pouco ramificado, quebradiço, e isento de pelos radiculares (Leite, 1995), bem como apresentar inadequada conexão vascular entre as raízes e as brotações (George, 1996). Estas situações reduzem a absorção e o fluxo de água e nutrientes no sentido ascendente e podem contribuir para o estresse hídrico, o qual ocorre quando a transpiração excede a absorção de água (Díaz-Pérez et al., 1995).

Segundo Brainerd & Fuchigami (1981), o estresse hídrico é a principal causa da mortalidade de plantas na fase de aclimatização, devido à excessiva transpiração da planta, principalmente das folhas, e da inadequada absorção de água pelas raízes.

Dentro da faixa ideal ao cultivo da espécie vegetal trabalhada, as temperaturas diurnas mais elevadas que as noturnas favorecem o enraizamento (Guerra e Nodari, 2012).

Quanto à fase de enraizamento, quando ele ocorre *ex vitro* evita a manipulação de plantas de raiz nua, ou a poda de raízes, práticas que muitas vezes resultam em má-qualidade do transplante e até na morte das plantas (Grattapaglia e Machado, 1998).

O enraizamento *ex vitro* de *Gypsophila paniculata* produziu um sistema radicular completo e funcional, por meio do maior número de raízes secundárias, facilitando a conexão vascular com o caule (Radmann, et al., 2001).

O enraizamento *ex vitro* pode ser realizado com sucesso para amoreira-preta, eliminando uma etapa do processo de micropropagação, ao combinar em uma fase apenas o enraizamento e a aclimatização, reduzindo o tempo e os custos de todo o processo (Augusto et al., 2006; Guerra e Nodari, 2012).

O enraizamento *ex vitro* possibilita reduzir o tempo e os custos de produção de mudas micropropagadas, pois diminui o intenso trabalho laboratorial, o preparo de meios de cultura, o tamanho das instalações de laboratório para a indução de plântulas ao enraizamento, e a retomada do crescimento das plantas é mais rápido, assim como a transferência para o campo (Cuzziol et al., 1996; Radmann, et al., 2001; Maciel et al., 2002; Xu, 2008; Hartmann et al., 2011).

Na aclimatização da cv. Pérola, observou-se que o substrato contendo matéria orgânica apresentou maior altura e número de folhas, promovendo maior massa fresca e seca da parte aérea. Isso evidenciou a participação significativa do substrato na formação do sistema radicular, na nutrição e no movimento da água no sistema solo-planta-atmosfera (Moreira et al., 2006). A mudança do metabolismo heterotrófico para autotrófico, na condição *ex vitro*, parece ser um fator não significativo na aclimatização do abacaxizeiro cv. Pérola, uma vez, que as plantas apresentam desenvolvimento vegetativo similar à condição de campo (Moreira, 2001).

Nas plantas micropropagadas, o deficiente desenvolvimento das folhas durante o cultivo *in vitro*, tem sido considerado o principal fator de vulnerabilidade, e a principal causa da baixa porcentagem de sobrevivência destas plantas após a transferência para a condição *ex vitro* (Lee et al., 1985; Nguyen et al., 1999).

O período de aclimatização *ex vitro* permite alteração na fisiologia, morfologia e anatomia foliar, podendo destacar a redução na densidade de estômatos, alteração do formato e a topografia destes (Capellades et al., 1990).

Radochová et al. (2009) verificaram que a elevada irradiância ( $270 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) durante o cultivo *in vitro* acelerou o desenvolvimento de folhas de plântulas de *Nicotiana tabacum*, crescidas no meio fotoautotrófico, e levou as folhas a adaptações típicas de folhas de sol, tais como, folhas espessas com grande proporção de parênquimas paliçádico e esponjoso. A epiderme de folhas desenvolvidas em cultivo *in vitro* sob elevado nível de luminosidade ( $80 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ )

<sup>1)</sup> e baixa umidade relativa (75%) apresenta modificações anatômicas de cera epicuticular, estômato e células epidérmicas, similar a folhas de plantas crescidas em casa de vegetação. Esses resultados indicam que as plântulas cultivadas *in vitro* podem se assemelhar às plantas crescidas em casa de vegetação, quando submetidas a ambientes modificados (Capellades et al., 1990).

O abacaxizeiro “Gomo-de-mel” apresenta elevada concentração de tricomas escamiformes (escamas) em ambas as superfícies foliares, recobrando os estômatos. Essas escamas desempenham funções importantes no limbo foliar como proteção mecânica e regulação da perda excessiva de água, mantendo uma atmosfera saturada de vapor em torno da folha, resultando na redução da transpiração (Batagin et al., 2009). Assim, concluíram que a concentração de escamas diferiu de acordo com a intensidade luminosa, sendo maior nas plântulas em pleno sol, facultando a adaptação das plantas ao ambiente *ex vitro*.

Nas plantas cultivadas *in vitro*, nas mesmas condições de luminosidade, a espessura da folha é mais fina, o tamanho das células do mesófilo é menor do que as desenvolvidas *ex vitro* (Lee et al., 1988).

Nguyen et al. (2001) observaram que plantas de café na fase *ex vitro*, originadas do cultivo sob elevada troca gasosa ( $5,9 \text{ h}^{-1}$ ), apresentaram aumento significativo em massa fresca, massa seca, área foliar e comprimento de broto, comparado com aquelas sob baixa troca gasosa de ar ( $2,7 \text{ h}^{-1}$ ).

Nos ambientes *in vitro* e *ex vitro*, a presença de tricomas glandulares multicelulares nas faces adaxial e abaxial da epiderme das folhas do abacaxizeiro permite a reflexão da luz. Outros estudos mostram que folhas com tricomas apresentam até 27% de reflexão superior a folhas em que os tricomas foram eliminados (Barboza et al., 2006).

As folhas das plantas de morangueiro *in vitro* apresentaram diferenciação no mesófilo, quando comparadas com as folhas de plantas *in vivo*, apresentando redução do tecido paliçádico e lacunoso, assim como a redução da camada de cera da cutícula. Após oito semanas de aclimatização *ex vitro*, as folhas das plantas de morangueiro apresentaram similar morfologia das folhas das plantas *in vitro*, porém com algumas características de plantas *in vivo* (Calvete et al., 2002).

A produção de folhas estruturalmente modificadas é o principal meio para as plantas responderem às alterações da radiação no ambiente (Lee et al., 2000).

A presença da hipoderme e do parênquima aquífero nas folhas *in vitro* pode ser correlacionada com o alto índice de sobrevivência de plântulas de abacaxi, quando transferidas para casa de vegetação. Embora com alta taxa de sobrevivência, a muda micropropagada de abacaxizeiro não apresenta bom crescimento, principalmente nos primeiros dois meses em aclimatização (Barboza et al., 2006).

Nos primeiros dias da aclimatização, a desidratação das plantas pode ser evitada pela presença dos tecidos da hipoderme e parênquima aquífero em plantas *in vitro*. Essa estrutura foliar é característica do abacaxizeiro, o que pode proporcionar a esta espécie o alto índice de sobrevivência das plantas transferidas para a condição *ex vitro* (Batagin et al., 2009).

O estresse hídrico e a fotoinibição, frequentemente acompanham a aclimatização de plantas crescidas *in vitro* para condições *ex vitro*. Provavelmente, estes são os principais fatores promotores da produção de espécies reativas de oxigênio, como consequência do estresse oxidativo (Batková et al., 2008).

A perda de água pelas plântulas de abacaxizeiro, após ser retiradas do recipiente *in vitro* foi superior naquelas advindas da micropropagação convencional em relação às crescidas na presença de luz natural (Silva et al., 2008).

Na condição *ex vitro*, o abacaxizeiro apresenta plasticidade em relação à morfologia e fisiologia, que pode mudar de acordo com as condições do ambiente sob as quais as plantas estão crescendo (Albert, 2004; Aragon et al., 2012).

Em maçã, o aumento na evaporação promoveu uma substancial variação na condutância estomática entre plantas *in vitro*. Assim, postulou-se que as plantas expostas a um estresse ambiental *in vitro*, e quando cultivadas sob condição de casa de vegetação responderiam à desidratação de maneira diferente (Shackel et al., 1990).

Plantas de videira cultivadas *in vitro* apresentaram uma elevada condutância estomática, com valores em torno de  $155 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ , em comparação aos valores de  $50 \text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$  encontrados nas plantas aclimatizadas (Fila et al., 2006).

A elevada densidade de estômatos em cultivos fotomixotróficos pode ser devido à elevada umidade relativa. Nas condições de frascos fechados, a presença de açúcar no meio, e o acúmulo de etileno podem ter uma função importante na formação de estômatos anormais. Nesta condição, as folhas possuem elevado índice estomático, o que pode reduzir as taxas de sobrevivência durante a aclimatização provenientes do cultivo *in vitro* (Vallikhan et al., 2003).

Após a transferência para o ambiente *ex vitro*, a manutenção inicial das plantas sob alta umidade relativa tem sido essencial para minimizar a perda de mudas (Desjardins et al., 1987). Após o período crítico inicial, a umidade relativa do ar é gradativamente reduzida. O período de decréscimo gradual da umidade relativa aumenta a capacidade de resposta dos estômatos, favorece a elaboração de ceras epicuticulares e reduz o murchamento após a transferência (Sciutti & Morini, 1995).

Um número significativo de pesquisas tem sido direcionado ao processo de produção de mudas micropropagadas, em especial, em relação ao ambiente *in vitro*. Entretanto, as pesquisas na fase *ex vitro*, também são essenciais, uma vez que contribuem para aprimorar o processo produtivo em relação à qualidade e à redução dos custos das mudas.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Material vegetal

##### 3.1.1. Fase de cultivo *In vitro*

O experimento foi realizado na Biofábrica Biomudas, no município de Venda Nova do Imigrante/ES, localizado a uma altitude de 730m, latitude (S): 20°19'29" e longitude (W. Gr.): 41°07'58".

O material vegetal foi estabelecido *in vitro* a partir de gemas axilares da cv. Vitória (*Ananas comosus* L. Merrill) provenientes de matrizes cultivadas em casa de vegetação, da coleção de germoplasma do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural - Incaper/ES.

O meio de multiplicação utilizado foi o MS (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 30 gL<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mgL<sup>-1</sup> de mio-inositol e BAP (benzilaminopurina) a 2 mgL<sup>-1</sup>, solidificado com 6 gL<sup>-1</sup> ágar bacteriológico Vetec<sup>®</sup>, pH ajustado para 5.7 ± 0.1 e esterilizado em autoclave com pressão de 1.5 atm e temperatura de 121°C, por 20 minutos. No cultivo, foram utilizados frascos com capacidade de 200 ml, contendo 40 ml de meio. A sala de cultivo foi mantida à temperatura de 25°C ± 1.0, intensidade luminosa de 50 µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas.

### 3.1.2. Fase de cultivo *Ex vitro*

Para o experimento realizado em casa de vegetação, foram utilizadas brotações da cv. Vitória com altura aproximada de 2.5 cm, provenientes da fase de multiplicação, no quarto subcultivo. As brotações foram imersas em soluções de AIB (50, 75, 100, 125 $\mu$ M), com diferentes tempos de incubação (0, 20; 40; 60 min.) e avaliadas em diferentes épocas (45, 90, 135, 175 dias após o transplântio - DAT). Para tanto, foi preparado uma solução estoque de AIB, de onde se retirava a alíquota correspondente a cada tratamento (dose) de AIB, complementando com água destilada para o volume final de 250 ml de solução. Em seguida, as brotações foram imersas nas soluções de acordo com a dosagem de AIB e tempo de incubação.

As brotações foram transplantadas para as bandejas de isopor com 200 células, tendo cada célula, aproximadamente, o volume de 16 cm<sup>3</sup>. Utilizou-se o substrato Vivatto<sup>®</sup>.

Para o tratamento controle as brotações, sem contato com AIB e sem raízes, foram plantadas diretamente no substrato.

O período de coleta dos dados foi de fevereiro a julho/2010. A irrigação das plantas se deu por meio do sistema automatizado estabelecido no viveiro da Biofábrica Biomudas, em que no primeiro mês, as plantas foram irrigadas diariamente de hora em hora, em um tempo de quatro minutos/irrigação, entre 6h e 19h. A partir do segundo mês, as plantas foram irrigadas a cada duas vezes ao dia (manhã e tarde), observando-se a saturação do substrato, pelo início do escoamento de água das células.

As adubações iniciaram a partir do segundo mês do transplântio, sendo realizadas semanalmente até o final do experimento. Para tanto, foram utilizados o produto comercial Ouro verde (20 gL<sup>-1</sup>) e a formulação 14-16-18 (20 gL<sup>-1</sup>).

Durante as avaliações, foram utilizadas quatro repetições/tratamento, totalizando 320 plantas, incluindo o tratamento controle. As avaliações biométricas e da capacidade fotossintética/relações hídricas foram realizadas nas épocas, previamente definidas após o transplântio.

### 3.1.3 Determinação da temperatura, umidade relativa e luminosidade

As condições ambientais da casa de vegetação (temperatura, fluxo de fótons fotossintético e umidade relativa) foram monitoradas, e as coletas dos dados foram feitas cada trinta minutos durante todo o experimento. Para temperatura e umidade relativa foi utilizado o Data Logger HOBO<sup>®</sup> (Spectrum Technologies, USA) e o fluxo de fótons fotossintéticos com o Data Logger WatchDog<sup>®</sup> (Spectrum Technologies, USA). O fluxo de fótons fotossintético médio foi de  $199.12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 1), a temperatura média foi de  $21.52 \text{ }^\circ\text{C}$  (Figura 2) e a umidade relativa média foi de 78.47% (Figura 3).

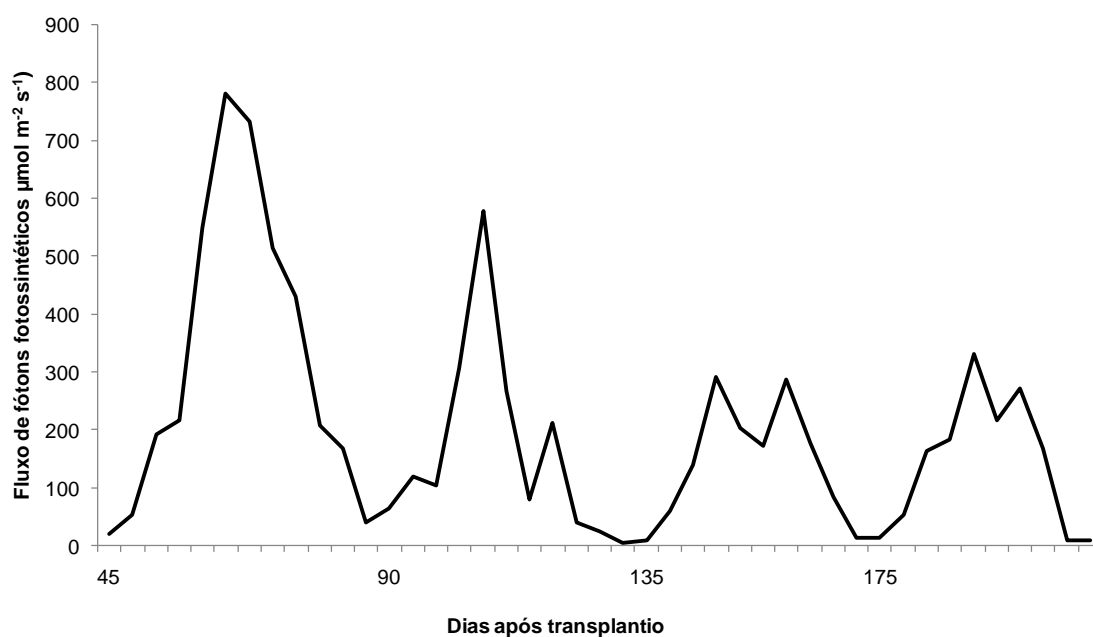


Figura 1. Fluxo de fótons fotossintéticos no local onde o experimento foi instalado, em função dos dias após o transplante.

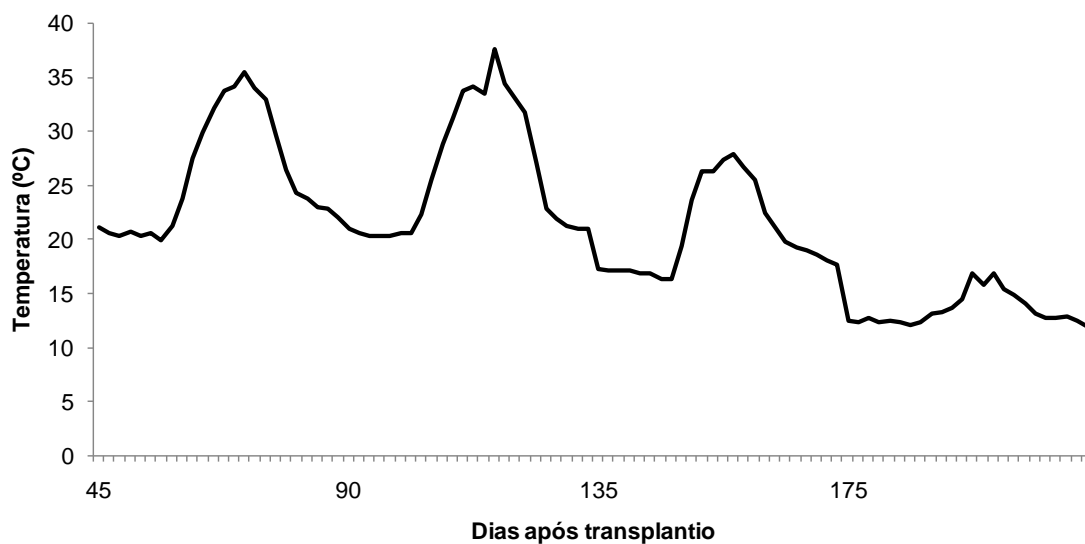


Figura 2. Distribuição da temperatura (°C) para cada época em dias após o transplante.

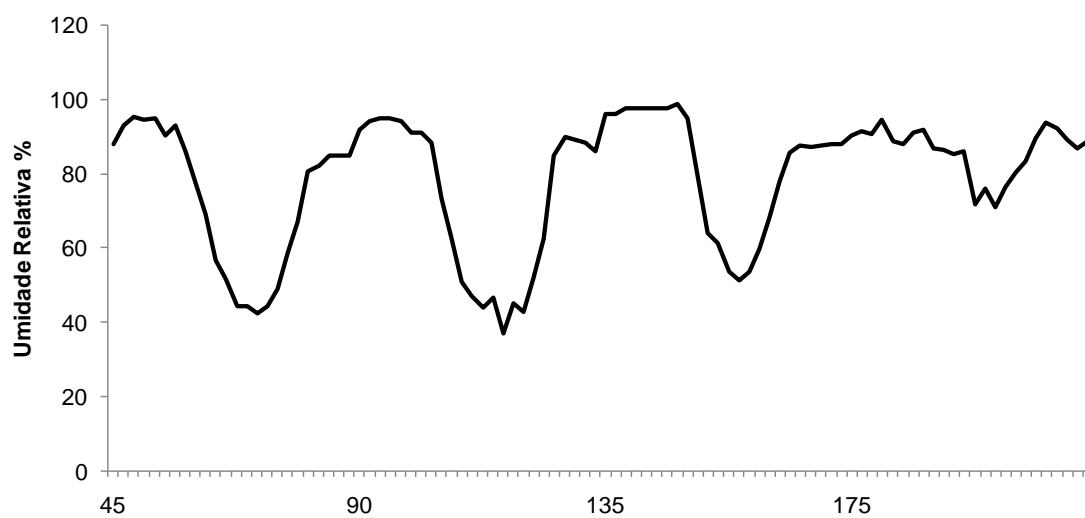


Figura 3. Distribuição da umidade relativa em (%) para cada época em dias após o transplante.

## **3.2. Características Avaliadas**

As análises relacionadas à capacidade fotossintética e biométrica foram realizadas aos 45, 90, 135 e 175 dias após o transplante (DAT).

### **3.2.1. Análises Biométricas**

#### **3.2.1.1. Altura da planta**

A altura da planta (H) de abacaxizeiro foi determinada a partir do colo até a folha recém-lançada no tufo apical, por meio de uma régua.

#### **3.2.1.2 Diâmetro da roseta**

O diâmetro da roseta (DR) foi determinado medindo-se as folhas mais opostas das mudas com auxílio de um paquímetro digital Starret® modelo 2001.

#### **3.2.1.3 Número de folhas**

O número de folhas (NF) foi determinado pela contagem desses órgãos.

#### **3.2.1.4 Área foliar**

A área foliar (AF) foi obtida nos DAT por meio do medidor de área foliar portátil modelo LI-3100 (LI-COR, Lincoln, NE, USA).

### 3.2.1.5. Massa fresca e seca

As plantas foram divididas em parte aérea e sistema radicular. Essas partes foram pesadas para determinação da matéria fresca da parte aérea (MFPA) e da raiz (MFR). Em seguida essas partes foram colocadas na estufa a 80°C, por 48 horas, e foram pesadas para determinação da matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR).

### 3.2.1.6 Massa foliar específica

A massa foliar específica (MFE) foi obtida pela razão entre massa seca e área da folha. Para tanto, foi utilizada a área da folha 'D', que é a maior entre as folhas mais jovens (Oliveira et al., 2004). A área foliar foi determinada utilizando um medidor portátil, modelo LI-3100 (LI-COR, Lincoln, NE, USA), a massa seca foi obtida após a permanência desta folha em estufa a 80°C por 48 horas.

## 3.2.2. Capacidade Fotossintética e Relações Hídricas

3.2.2.1 Taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática ( $g_s$ ), transpiração (E) e déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar ( $DPV_{\text{folha-ar}}$ ).

A taxa fotossintética líquida ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), a condutância estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), a transpiração ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e o déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar -  $DPV_{\text{folha-ar}}$  ( $P_{ka}$ ) foram determinados em folhas desenvolvidas entre 8 e 10 horas da manhã com uma intensidade de fluxo de fótons fotossintéticos (FFF) de  $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , utilizando-se um conjunto de LED's vermelhos (cuidando-se para evitar o aquecimento foliar e otimizar a taxa fotossintética) por meio de Sistema Portátil de Medição de Trocas Gasosas por Infravermelho (IRGA), modelo LI-6200 (LI-COR, Lincoln, NE, USA). As medições foram realizadas nos dias após o transplante (45, 90, 135 e 175 DAT). Foi utilizada uma câmara com 250 mL de volume e área de  $7.5 \text{ cm}^2$ .

Durante as medições, a concentração inicial do CO<sub>2</sub> na câmara foi mantida em 380 ± 30 µmol mol<sup>-1</sup>.

### 3.2.2.2 Fluorescência da clorofila **a**

As variáveis de fluorescência da clorofila **a** ( $F_v/F_m$ ) foram a partir do fluorímetro modulado portátil Mini-PAM (Walz, Alemanha), na mesma área da folha, e logo após as medições das trocas gasosas. Antes das medições, as folhas foram adaptadas ao escuro por 30 minutos para que os centros de reações estivessem completamente abertos (todos os aceptores primários oxidados) com perda mínima de calor. As variáveis da fase rápida de indução da fluorescência como fluorescência mínima ( $F_0$ ), foram obtidas com a excitação da área amostrada por uma luz vermelha modulada de baixa intensidade (0,03 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), e a fluorescência máxima ( $F_m$ ) obtida pela aplicação de um pulso de 0,8 s de luz actínica saturante (>6000 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). A fluorescência variável ( $F_v$ ) foi determinada pela diferença entre  $F_0$  e  $F_m$ . Com os valores de  $F_v$  e  $F_m$  foi obtido o rendimento quântico potencial do fotossistema II de acordo com Genty et al. (1989). O  $F_v/F_m$  foi obtido aos 45, 90, 135 e 175 dias após o transplântio.

$$F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$$

### 3.2.2.3 Intensidade de cor verde das folhas.

A intensidade de verde (IV) das folhas do abacaxizeiro foi estimada por meio do Medidor Portátil de Clorofila, modelo SPAD-502 "Soil Plant Analyser Development" (Minolta, Japão). Os valores médios foram obtidos com quatro repetições em cada época de análise, nas mesmas folhas e logo após a medição da fluorescência.

#### 3.2.2.4 Conteúdo relativo de água

Para o conteúdo relativo de água (CRA), as medidas foram realizadas segundo Turner (1981), utilizando a seguinte equação:

$$\text{CRA} = \frac{\text{massa da matéria fresca} - \text{massa da matéria seca}}{\text{massa da matéria saturada} - \text{massa da matéria seca}} \times 100.$$

### 3.3 Análises Estatísticas

A análise de variância no modelo fatorial 4x4x4x4 (doses de AIB, tempo de imersão, dias após transplante e número de repetições) foi realizada utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey para a obtenção da diferença mínima significativa a 5% de probabilidade. Para verificar se as concentrações de AIB foram significativas realizou-se a comparação das médias relativas às características biométricas e capacidade fotossintética e relações hídricas, com o controle, caracterizado por brotações com a ausência de AIB e de raízes. Para os tempos de imersão o controle foi apenas a imersão rápida (tempo zero) na solução de AIB. O teste t de Student a 5 % de significância foi utilizado para a comparação entre o controle e cada concentração de AIB. O programa utilizado foi o Statistica v. 7.0.



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao tempo de desenvolvimento das plantas, a avaliação de medidas biométricas pode ser uma excelente ferramenta para se investigar a capacidade produtiva de genótipos de interesse agrônômico (Torres Netto, 2005). Estas avaliações associadas às medidas da capacidade fotossintética, em diferentes intervalos de tempo, podem ser usadas para a investigação do efeito de fatores ambientais sobre o crescimento, a adaptabilidade de espécies em diferentes ecossistemas e da capacidade produtiva de genótipos (Magalhães, 1979; Villar et al., 2005).

As tabelas 1 e 2 mostram respectivamente os valores de F (ANOVA) para as características biométricas e as características fotossintética/status hídrico (CFSH) mensuradas como massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR), área foliar (AF), altura da planta (H), diâmetro da roseta (DR), número de folhas (NF), massa foliar específica (MFE), intensidade de verde (IV), déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar ( $DPV_{\text{folha-ar}}$ ), transpiração (E), condutância estomática ( $g_s$ ), taxa fotossintética (A), rendimento quântico máximo potencial do FSII às 8 horas da manhã ( $F_v/F_m$  8h) e conteúdo relativo de água (CRA).

O resultado das análises biométricas, contrastadas com as concentrações de AIB, somente apresentou diferença significativa para massa seca de raiz (Tabela 1). As demais variáveis como a massa fresca e seca da parte aérea, massa fresca de raiz, área foliar, altura da planta, diâmetro da

roseta, número de folhas e massa foliar específica não foram influenciadas significativamente pela variação na concentração de AIB (Tabela 1).

Entretanto, pode ser verificado que a massa fresca da parte aérea e massa seca de raiz foram influenciadas significativamente pela variação no tempo de imersão da plântula na solução de AIB, pelo número de dias após o transplântio e pelas interações possíveis entre os tratamentos. Contudo, para massa fresca de raiz e altura de planta, a influência significativa ocorreu apenas para o tratamento dias após o transplântio. Padrão de resultado esperado para as medidas biométricas, devido à tendência natural de crescimento da planta com o passar do tempo (Tabela 1). Bregonci et al. (2008) também verificaram em plantas do abacaxizeiro 'Gold' um crescimento de forma crescente nas diferentes épocas de retirada da fase de aclimatização o que corrobora com os dados de crescimento neste trabalho.

Tabela 1. Valores de F, níveis de significância e valores do coeficiente de variação (CV) para as variáveis biométricas: massa fresca da parte aérea (MFPA), massa fresca da raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), área foliar (AF), altura da planta (H), diâmetro da roseta (DR), número de folhas (NF) e massa foliar específica (MFE), em abacaxizeiro da cv. Vitória, submetidas a 4 concentrações de AIB, 4 tempos de imersão e 4 épocas de análise após transplântio.

Fonte de Variação	MFPA	MFR	MSPA	MSR	AF	H	DR	NF	MFE
<b>Concentração de AIB</b>	0,01 ns	1,794 ns	1,77 ns	9,14 **	2,43 ns	0,49 ns	0,31 ns	0,82 ns	0,24 ns
<b>Tempo de Imersão</b>	8,03 **	0,587 ns	1,62 ns	6,91 **	0,94 ns	0,94 ns	3,84 *	0,79 ns	2,73 *
<b>Dias após Transplântio</b>	1540,51 **	233,56**	634,70 **	120,20 **	684,11 **	20,89 **	180,43 **	432,26 **	755,95 **
<b>Concentração AIB x Tempo de Imersão</b>	4,24 **	1,24 ns	1,65 ns	5,94 **	3,28 **	1,15 ns	1,60 ns	1,93 *	1,48 ns
<b>Concentração AIB x Dias após Transplântio</b>	2,09 *	1,72 ns	1,07 ns	5,92 **	1,30 ns	0,98 ns	2,70 **	0,68 ns	2,93 **
<b>Tempo de Imersão x Dias após Transplântio</b>	2,84 **	0,75 ns	2,45 *	7,24 **	2,53 **	0,90 ns	0,67 ns	1,68 ns	3,57 **
<b>Concentração AIB x Tempo de Imersão x Dias após Transplântio</b>	3,59 **	1,21 ns	1,35 ns	7,36 **	3,84 **	1,24 ns	0,62 ns	0,72 ns	1,83 *
<b>CV(%)</b>	63,91	69,05	72,32	86,67	71,80	24,20	34,49	25,98	45,91

Níveis de significância indicados por: \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  e ns = não significativo

Na tabela 2, onde foram relacionadas as características fotossintéticas/status hídrico (CFSH), pode ser verificado que somente o CRA apresentou valores significativos para todos os tratamentos e as interações entre eles. Os maiores valores de CRA foram obtidos para a concentração de AIB 75  $\mu\text{M}$ , nos tempos de imersão de 0 e 20 (minutos), e aos 90, 135 e 175 dias após o transplântio. O menor valor foi obtido em 45 dias após o transplântio. Posteriormente estes dados serão mostrados e discutidos.

Resultado estatístico similar foi obtido para CFSH em relação à influência dos dias após transplântio.

A tabela 2 também evidencia a resposta significativa da intensidade de verde,  $\text{DPV}_{\text{folha-ar}}$ ,  $E$ ,  $g_s$ ,  $A$ ,  $F_v/F_m$  e CRA para os dias após transplântio. No período de 45 dias após o transplântio, os menores valores foram registrados para intensidade de verde e  $F_v/F_m$ . Para  $\text{DPV}_{\text{folha-ar}}$ ,  $E$ ,  $g_s$  e  $A$ , os menores valores foram registrados aos 90 dias. Posteriormente os dados serão mostrados e discutidos.

Avaliando individualmente cada característica, pode-se verificar que somente a intensidade de verde,  $\text{DPV}_{\text{folha-ar}}$  e o CRA foram significativamente influenciados pela concentração de AIB. Já a transpiração e o CRA, estes foram influenciados pelo tempo de imersão. A taxa fotossintética e o CRA foram influenciados pelo tempo de imersão dentro de dias após o transplântio.

Tabela 2. Valores de F, níveis de significância e valores do coeficiente de variação (CV) para as variáveis fisiológicas: intensidade de verde (IV), déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar ( $DPV_{\text{folha-ar}}$ ), transpiração (E), condutância estomática ( $g_s$ ), taxa fotossintética (A), rendimento quântico máximo potencial do FSII às 8 horas da manhã ( $F_v/F_m$  8h) e conteúdo relativo de água (CRA), em abacaxizeiro da cultivar Vitória, submetidas a 4 concentrações de AIB, 4 tempos de imersão e 4 épocas de análise após transplantio.

Fonte de Variação	IV	$DPV_{\text{folha-ar}}$	E	$g_s$	A	$F_v/F_m$	CRA
Concentração de AIB	3,48 *	50,86 **	0,38 ns	0,97 ns	0,51 ns	2,00 ns	5,86 **
Tempo de Imersão	0,88 ns	0,05 ns	9,64 **	2,32 ns	1,57 ns	2,00 ns	8,89 **
Dias após Transplantio	229,96 **	26,43 **	40,47 **	238,68 **	10,56 **	117,00 **	37,31 **
Concentração AIB x Tempo de Imersão	2,62 **	0,03 ns	1,69 ns	0,68 ns	0,76 ns	2,00 *	3,65 **
Concentração AIB x Dias após Transplantio	5,59 **	29,55 **	1,24 ns	1,69 ns	0,21 ns	4,00 **	5,88 **
Tempo de Imersão x Dias após Transplantio	1,38 ns	1,78 ns	1,76 ns	1,45 ns	3,39 **	1,00 ns	4,43 **
Concentração AIB x Tempo de Imersão x Dias após Transplantio	1,33 ns	1,88 **	1,17 ns	1,39 ns	0,61 ns	3,00 **	2,92 **
CV(%)	29,27	59,23	30,16	81,86	513,71	2,24	9,75

Níveis de significância indicados por: \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$  e ns = não significativo

#### 4.1. Análises biométricas

As figuras 4 e 5 mostram que a massa fresca de raiz e a massa fresca da parte aérea aumentaram em função do número de dias após o transplantio. Este resultado mostra que em todos os tratamentos aplicados, o abacaxizeiro manteve a taxa de crescimento, com maior incremento entre 90 e 135 DAT. Esses dados concordam com Lima et al. (2002), que observaram em plantas do abacaxizeiro cv. Pérola-2, o acúmulo de matéria fresca de raiz e parte aérea ao longo do crescimento, até o limite estabelecido pela interação do ambiente e genótipo. A partir dos 135 DAT, pode-se inferir que, uma vez que houve um manejo de água e de nutrientes adequado, a pequena redução na taxa de crescimento a partir desta data pode estar associada à redução na temperatura do ar e na intensidade do fluxo de fótons fotossintéticos - FFF, bem como um início de uma restrição mecânica do sistema radicular. Esta última hipótese pode ser corroborada ao se observar o valor do volume das células utilizadas no experimento (16 cm<sup>3</sup>).

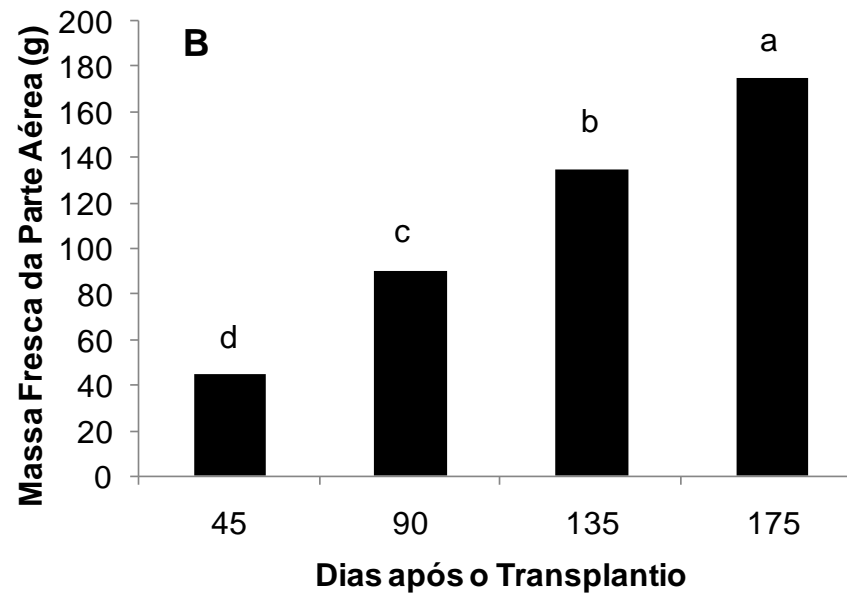
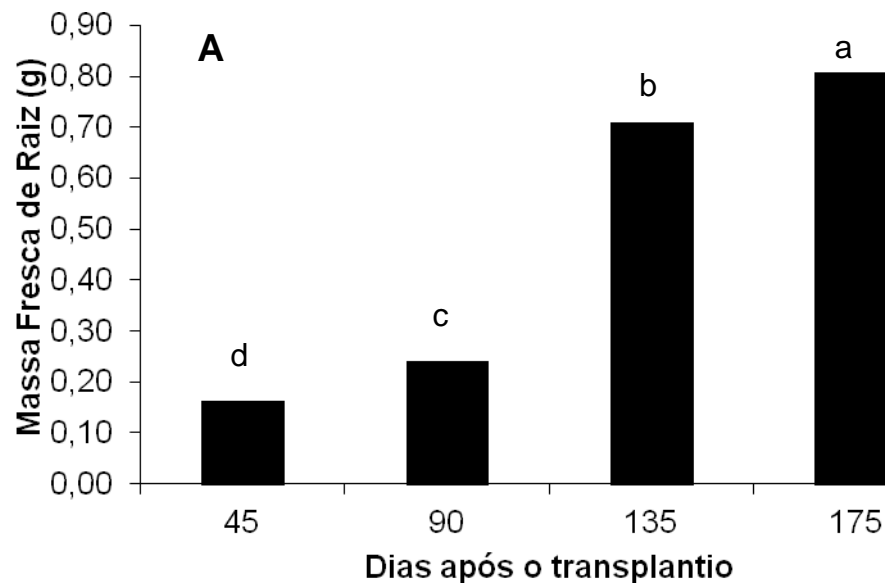


Figura 4. A- Massa fresca de raiz (g) e B- Massa fresca da parte aérea (g) do abacaxizeiro cv “Vitória” nas épocas de análise, dias após o transplântio. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Quando se compara as análises ao longo dos dias após transplântio, a massa fresca da parte aérea - MFPA apresenta variação, sendo que as maiores médias foram obtidas aos 175 dias após o transplântio em 40 e 60 minutos de imersão (Figura 5). Entretanto, os dados mostram que o aumento da MFPA acompanhou o crescimento das plantas ao longo das épocas. Os dados coadunam com os da Figura 4, correspondente à massa fresca de raiz, mostrando que à medida que o sistema radicular cresce há promoção do crescimento da parte aérea. Essa relação foi observada por Coelho et al., (2009) ao afirmarem que a redução da massa seca produzida pelas raízes do abacaxizeiro 'Smooth Cayenne', interferiu na produção de massa fresca e seca da parte aérea das mudas, uma vez que o crescimento e o desenvolvimento são dependentes da absorção de água e nutrientes pelas raízes (Coelho et al., 2009), o que esta de acordo com os dados obtidos para cv. Vitória, nas condições onde se realizou o trabalho.

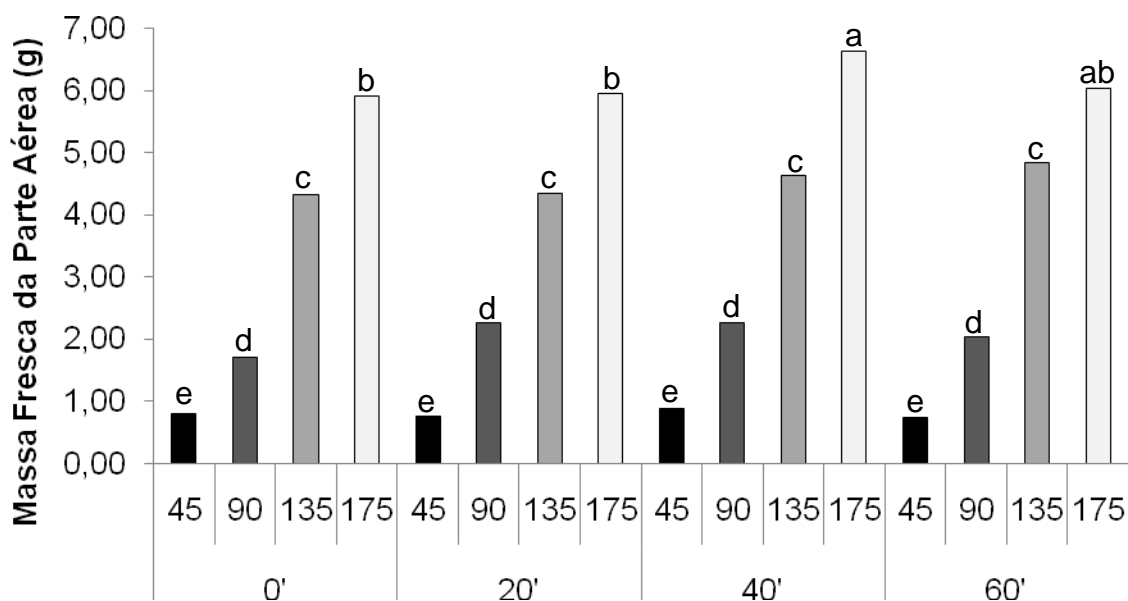


Figura 5. Massa fresca da parte aérea (g) do abacaxizeiro cv Vitória nas épocas de análise, dias após o transplântio e tempos de imersão na solução de AIB para enraizamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).



As plantas de abacaxi tiveram um crescimento proeminente da área foliar de 45 para 90 dias após o transplântio, enquanto o aumento na área foliar de 90 para 135 e 175 não foi tão acentuado (Figura 6 e 7). Isto sugere que a planta tenha um investimento na produção e desenvolvimento de raízes durante os primeiros 45 dias após o transplântio, para posteriormente investir na expansão da área foliar, e assim otimizar o processo fotossintético. Resultados similares foram apresentados por Feitoza (2010), ao avaliar a expansão da área foliar de plantas do abacaxizeiro cultivar 'Vitória', que apresentaram um grande crescimento da área foliar a partir dos 90 dias após o plantio, porém associados a elevadas doses de adubo. Bregonci et al. (2008a) observaram que os valores médios da área foliar por muda do abacaxizeiro 'Gold', para cada idade de retirada da casa de vegetação, dentro de cada época de avaliação, apresentaram diferenças a partir de 90 dias, por meio do crescimento exponencial positivo. A redução no incremento da área foliar a partir dos 135 DAT pode também ser explicada pela redução na temperatura do ar e no FFF no interior da casa de vegetação.

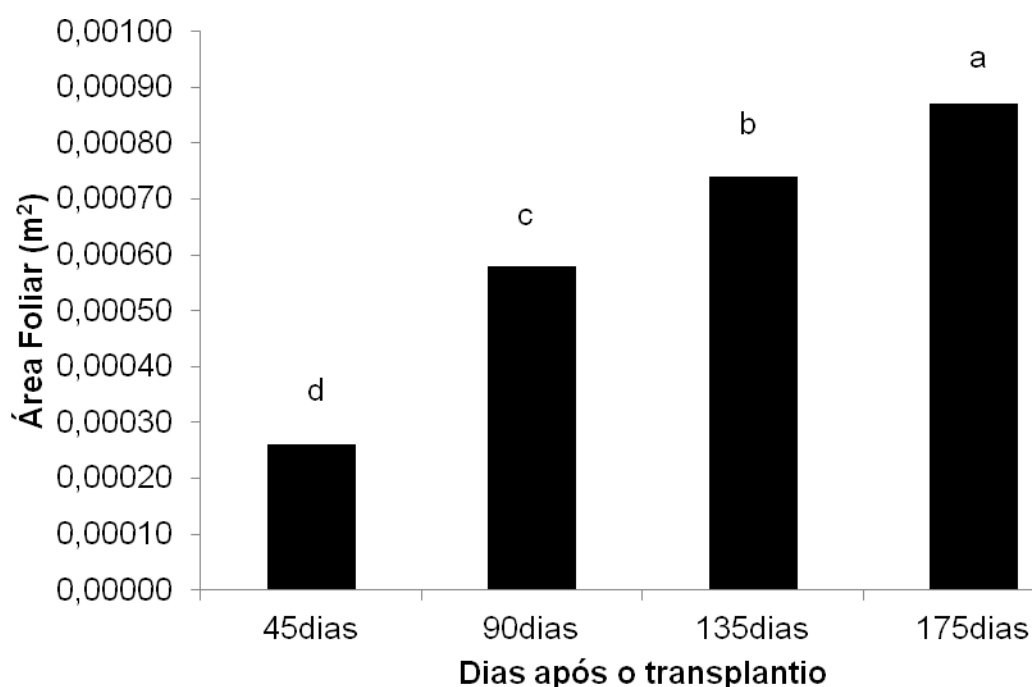


Figura 6. Área foliar (m<sup>2</sup>) do abacaxizeiro cv Vitória nas épocas de análise após o transplântio. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

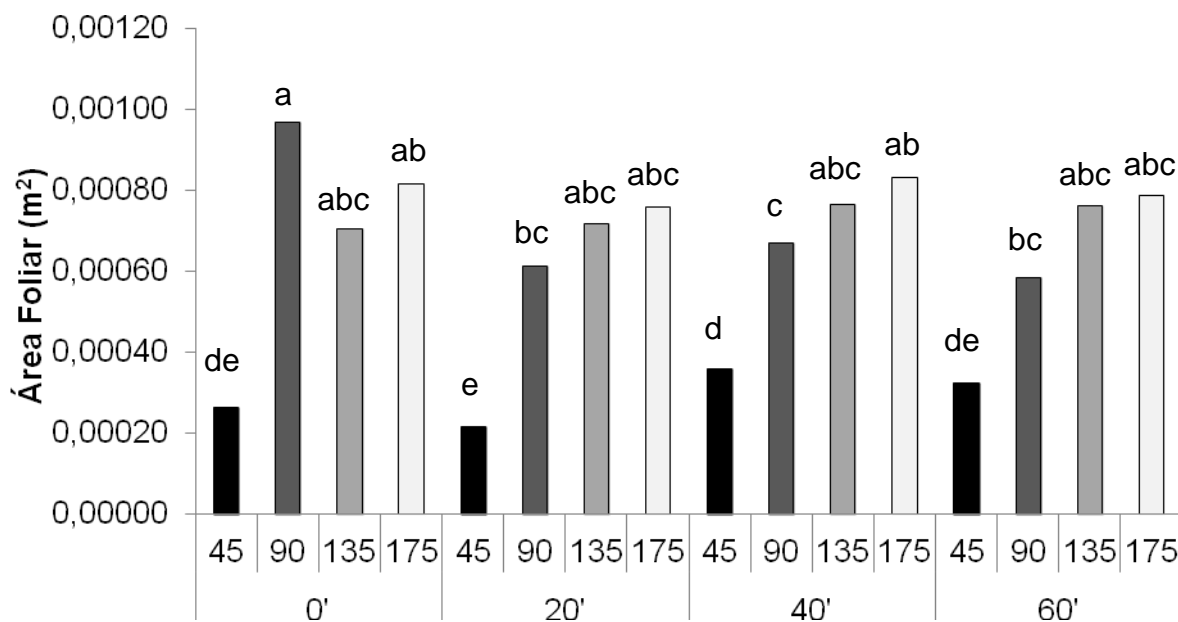


Figura 7. Área foliar (m<sup>2</sup>) do abacaxizeiro cv Vitória nas épocas de análise após o transplântio e tempos de imersão na solução de AIB para enraizamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Similarmente à área foliar, a massa seca da parte aérea aumentou com os dias após o transplântio. Contudo, o aumento foi significativo apenas aos 175 dias após o transplântio. Isso pode caracterizar a fase final de adaptação da planta às condições finais de aclimatização, após o transplântio (Figura 8). A tendência principal da planta é investir em raízes nos primeiros dias após o transplântio e posteriormente em parte aérea. Essa assertiva é corroborada com Barboza et al. (2004), ao afirmar que o crescimento acelerado das raízes pode retardar o desenvolvimento da parte aérea, porque o crescimento ativo do sistema radicular necessita de substâncias orgânicas translocadas da parte aérea para a base, comprometendo, assim, o crescimento do caule e das folhas do abacaxizeiro.

A Figura 8 mostra que, a parte aérea da cv. Vitória começa a se desenvolver após a formação, mínima necessária, do sistema radicular. Assim, Ribeiro et al. (2011) descrevem essa relação por meio da avaliação de plantas da cv. Vitória obtidas *in vitro*, em relação a três tipos de poda radicular, quatro épocas de aplicação de nitrogênio, durante quatro coletas de plantas. Os autores observaram que em todas as coletas, as plantas de abacaxi sem poda do sistema radicular

apresentaram os maiores valores de massa seca de parte aérea (13.3g), e plantas com poda total, a menor massa de parte aérea (10.5g), representando uma redução de 21%.

De acordo com Feitoza (2010), independente da cultivar de abacaxi, os maiores ganhos em massa seca são obtidos pelas folhas, resultante da capacidade da planta em manter a assimilação fotossintética do carbono ao longo dos dias após transplântio. Bregonci et al. (2008a) confirmaram essa dinâmica para o abacaxizeiro cv. Gold, onde mais de 90% dos carboidratos produzidos foram utilizados para o crescimento e para a produção da parte aérea

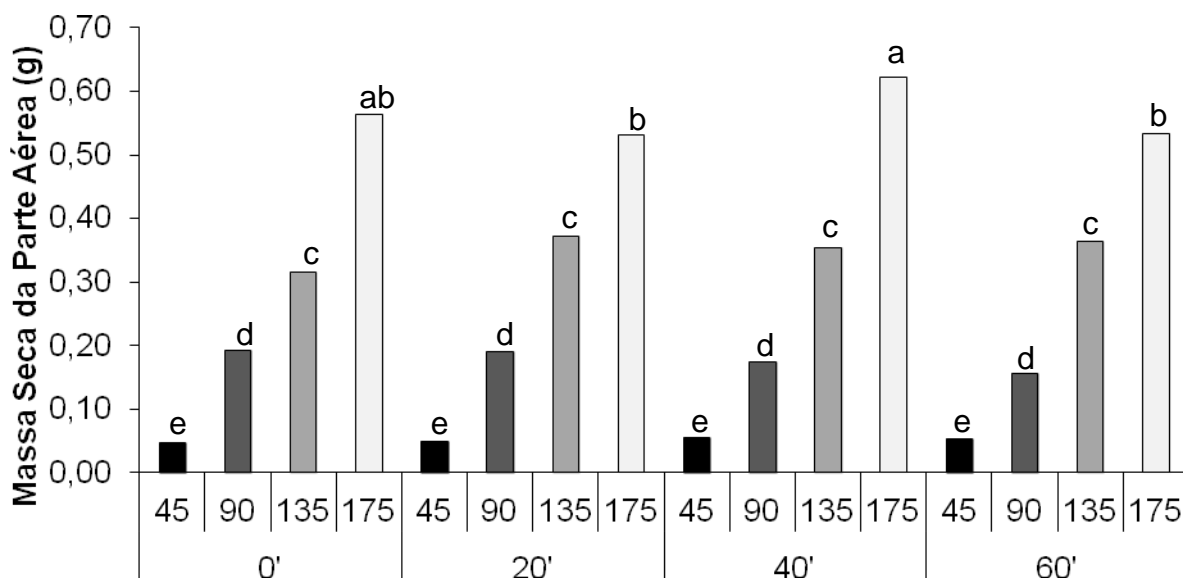


Figura 8. Massa seca da parte aérea (g) do abacaxizeiro cv Vitória nas épocas de análise dias após o transplântio e tempos de imersão na solução de AIB para enraizamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Os maiores valores de massa seca para raízes (Figura 9), foram obtidos durante o período de 135 e 175 dias, independente dos tempos de imersão, e estes dados são corroborados por Bregonci et al. (2008a). Estes autores trabalharam com diferentes épocas de aclimatização (0 a 5 meses de idade) e aclimação (0 a 150 dias) das plantas de abacaxizeiro cv. Gold.

Bregonci et al. (2008a) verificaram um incremento na massa seca da parte aérea a partir de 90 dias, enquanto para massa seca de raiz ocorreu a partir de 120 dias após o transplântio. Estes resultados podem ser corroborados pelos dados apresentados na Figura 9, pois a área foliar (Figura 6) aumentou consideravelmente de forma geral aos 90 e posteriormente aos 135 e 175 dias após o transplântio, aumentando assim também a massa seca foliar.

As raízes do abacaxizeiro são produzidas durante o primeiro mês após o plantio, quando então passam apenas a alongar, pois somente a partir do quarto ou quinto mês haverá emissões de novas raízes (Cunha e Cabral, 1999; Feitoza, 2010). Ainda, na última época de coleta de dados (120 dias), Ribeiro et al. (2011) verificaram que houve maior razão raiz/parte aérea, demonstrando investimento preferencial, da cv. Vitória, na produção de raízes, corroborando com os dados apresentados na Figura 7.

As plantas de abacaxizeiro inoculadas com bactérias diazotróficas apresentaram inicialmente o crescimento de matéria seca do sistema radicular, e em seguida deu-se o crescimento da matéria seca da parte aérea (Weber et al., 2003). Essa informação correlaciona-se com os dados de matéria seca da raiz e parte aérea do presente trabalho.

Resposta similar à verificada nessa pesquisa ocorreu no enraizamento *ex vitro* de plantas de cravo e *Spathiphyllum*, em que o sistema radicular retardou o crescimento da parte aérea, em face às necessidades energéticas da rizogênese (Barboza et al., 2004; Maciel et al., 2002; Huylenbroek e De Riek, 1995; Cuzziol et al., 1996), comportando-se como um intenso dreno (Clarkson, 1985).

O período de permanência das plantas em um volume de substrato relativamente reduzido (16 cm<sup>3</sup>/célula) pode ter contribuído para restringir o desenvolvimento do sistema radicular, que diretamente interferiu no desempenho das outras características biométricas. Isso foi observado por Bregonci et al. (2008b), ao afirmar que os valores médios de área foliar, altura e massa seca da parte aérea das mudas do abacaxizeiro cv. Gold foram sempre menores na bandeja de isopor, com 200 células (16 cm<sup>3</sup>), do que nos

outros recipientes. Provavelmente, este fato ocorreu devido ao menor volume de substrato, que disponibiliza menos água, fitormônios e nutrientes minerais para a parte aérea por meio do menor sistema radicular.

Para o abacaxizeiro 'Smooth Cayenne', a redução da massa seca das raízes interferiu na produção de massa fresca e seca da parte aérea das mudas, uma vez que o crescimento e o desenvolvimento são dependentes da absorção de água, fitormônios e nutrientes pelas raízes (Coelho et al., 2009). Este fato está de acordo com os dados obtidos para cv. Vitória, nas condições deste presente trabalho. Entretanto, Feitoza (2010) postulou que independente da cultivar de abacaxi, os maiores ganhos em massa seca são obtidos pelas folhas, resultante da capacidade deste órgão em manter a assimilação fotossintética do carbono prolongada por um longo período de tempo. Bregonci et al. (2008a) confirmaram essa dinâmica para o abacaxizeiro cv. Gold, em que demonstraram que mais de 90% dos carboidratos produzidos foram utilizados para o crescimento e para a produção da parte aérea.

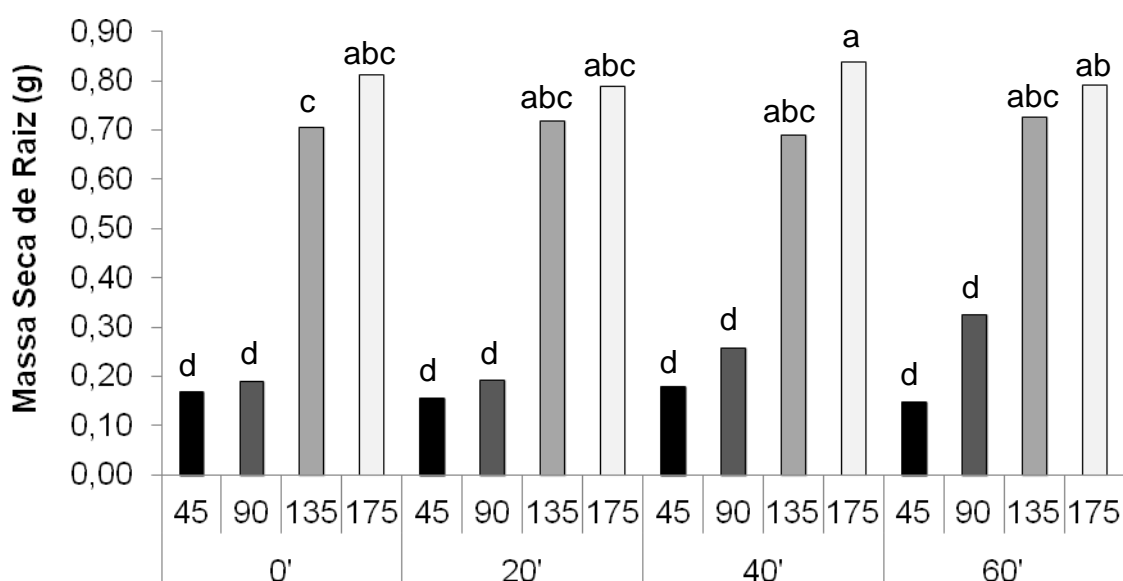


Figura 9. Massa seca de raiz (g) do abacaxizeiro cv Vitória nas épocas de análise, dias após o transplante e tempos de imersão na solução de AIB para enraizamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Os maiores valores de número de folhas (Figura 10) foram obtidos durante o período de 135 e 175 dias, independente dos tempos de imersão. Esse resultado foi similar ao obtido por Berilli (2010), ao testar vários períodos de aclimatização de plantas do abacaxizeiro cv. Vitória (30, 60, 90, 120 e 150 dias) em diferentes épocas de aclimação. O autor verificou que os períodos de 120 e 150 dias de aclimatização apresentaram o maior número de folhas por planta, não diferindo estatisticamente.

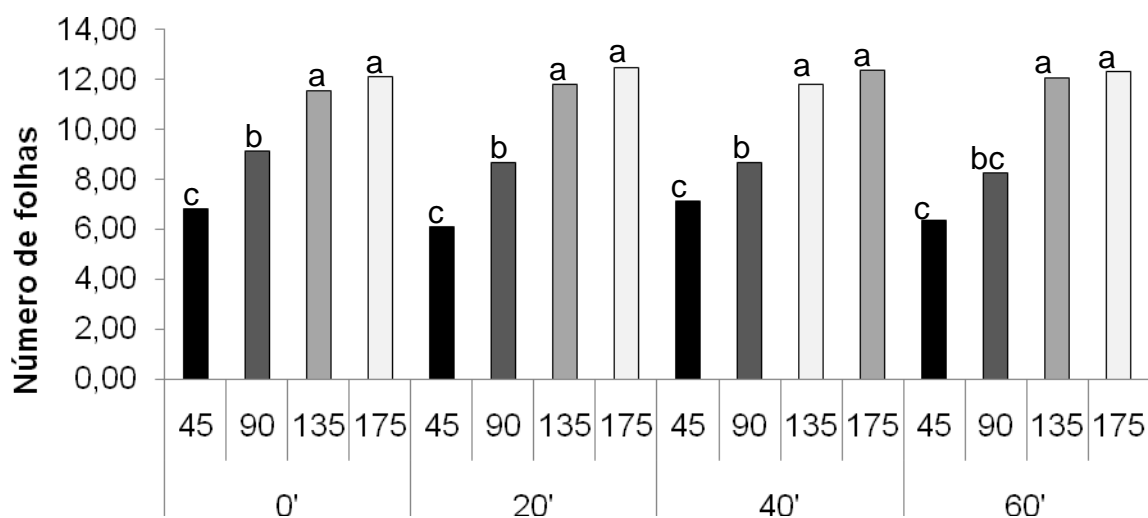


Figura 10. Número de folhas (n) do abacaxizeiro cv Vitória nas épocas de análise dias após o transplântio e tempos de imersão na solução de AIB para enraizamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

A variável altura da planta foi maior durante a análise aos 175 dias após o transplântio (Figura 11). Porém, essa diferença foi significativa apenas para 175 dias após o transplântio relacionado em 0' e 40' de imersão. Enquanto para 45 dias não houve diferença significativa das médias para os tempos de imersão (Figura 11). Segundo Freitas (2010), esse resultado caracteriza o desenvolvimento normal do abacaxizeiro. Isto é uma importante característica para a avaliação do crescimento e do desenvolvimento da planta, pois está fortemente correlacionada com as outras variáveis mensuradas e apresentadas em outras figuras, como área foliar (Figuras 6 e 7) e massa seca da parte aérea (Figura 8). Berilli (2010) trabalhando com a cv. Vitória observou

que após 150 dias da fase de aclimação, as plantas provenientes de 60 e 90 dias de aclimatização não diferiram para a altura de planta.

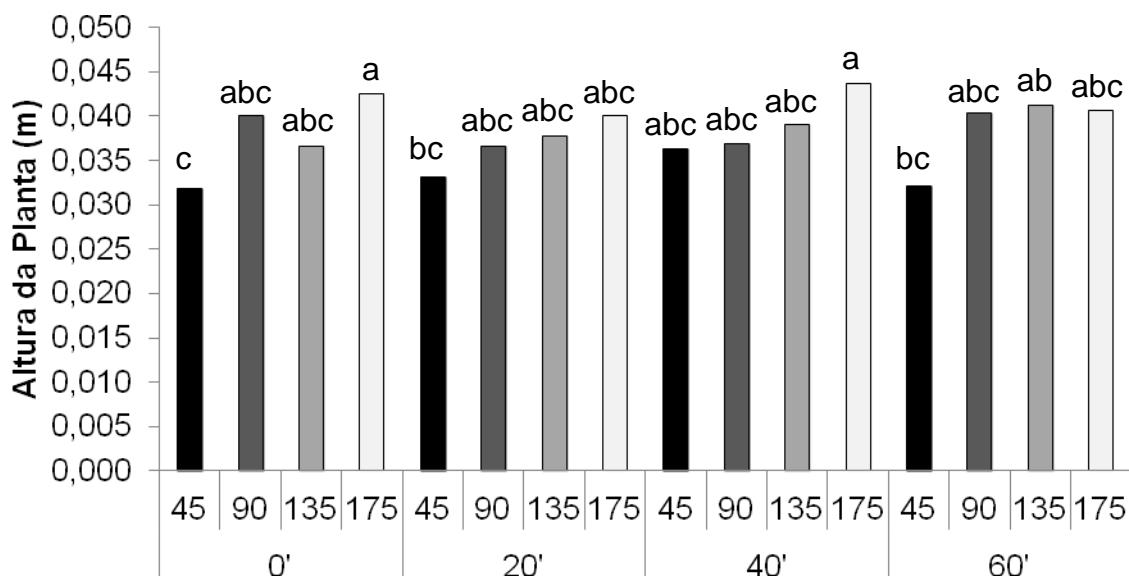


Figura 11. Altura de planta (m) do abacaxizeiro cv Vitória nas épocas de análise dias após o transplântio e tempos de imersão na solução de AIB para enraizamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Na Figura 12, observa-se que o aumento do diâmetro da roseta foi influenciado pelo tempo em dias após o transplântio. As maiores médias de diâmetro foram registradas acima de 45 dias. Esses resultados são corroborados por Berilli (2010) que após 150 dias da fase de aclimação das plantas da cv. Vitória, provenientes de diferentes fases de aclimatização (30, 60, 90, 120, 150 dias), observou que o diâmetro da roseta cresceu com o passar do tempo. Resultado semelhante foi obtido com plantas de bananeira micropropagadas, em que os maiores diâmetros de roseta correspondem aos maiores períodos de aclimatização, o que favorece a sobrevivência a campo e a rapidez no crescimento inicial das plantas (Martins et al., 2011).

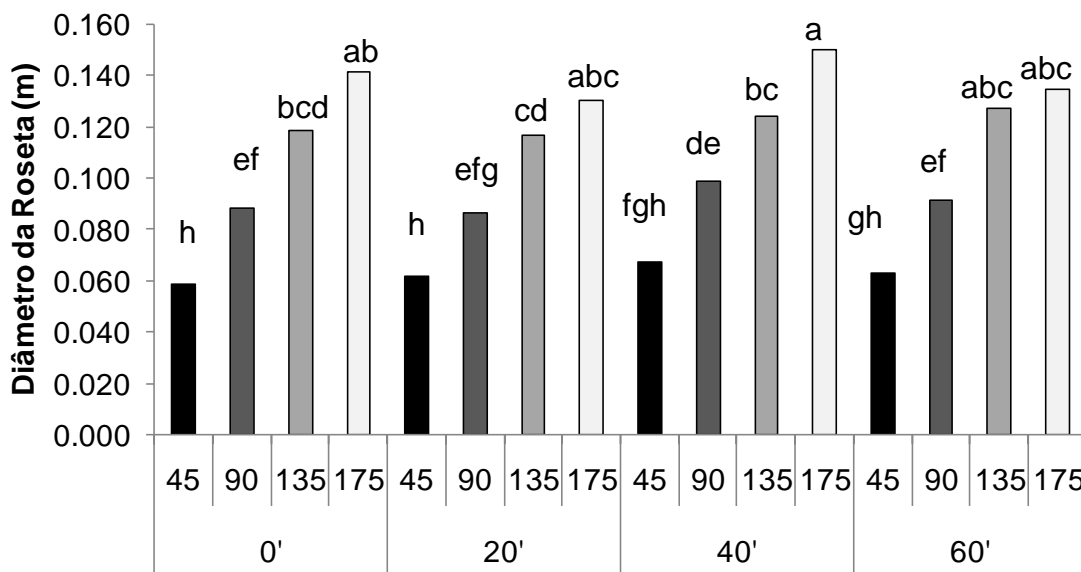


Figura 12. Diâmetro da roseta (m) do abacaxizeiro cv Vitória nas épocas de análise dias após o transplântio e tempos de imersão na solução de AIB para enraizamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Na Figura 13 encontram-se os resultados da massa foliar específica, mostrando que com o desenvolvimento normal da planta a massa foliar específica aumentou conforme aumentavam os dias após o transplântio.

A Figura 13 mostra, ainda, que os valores médios da massa foliar específica foram, estatisticamente, iguais quando se comparou o mesmo dia de transplântio nos tempos de zero e 20 minutos.

A massa foliar específica aos 90 dias após o transplântio não apresentou diferença significativa para os tempos de imersão. E ainda, apresentou-se igual estatisticamente às médias dos 45 dias após o transplântio nos tempos de 40 e 60 minutos.

Para os 175 dias após o transplântio os valores da massa foliar específica não sofreram influência do tempo de imersão.

A quantidade de massa seca por unidade de área da folha, estima a proporção relativa da superfície assimilatória e os tecidos de sustentação e condutores da folha (Evans, 1972; Cruz et al., 2004) e pode representar a espessura da folha. Os maiores valores desta variável podem indicar folhas mais



espessas, com maior quantidade de células e com menor espaço aéreo interno. Além disso, a MFE vem sendo correlacionada com a taxa fotossintética (Pearce et al., 1969), taxa de crescimento relativo (Poorter & Van der Werf, 1998), produção (Pearce et al., 1969 e Singh et al., 1985) e estrutura foliar (Cambridge & Lambers, 1998). Esse incremento de MFE mostra que a folha à medida que vai crescendo, proporciona uma melhor estrutura para realizar o processo fotossintético de acordo com as condições ambientais. O valor desta variável pode explicar o motivo pelo qual as folhas das plantas aos 90 e 135 DAT apresentaram uma área foliar semelhante às plantas aos 175 DAT (Figura 6), e uma menor massa seca da parte aérea, quando comparadas às plantas crescidas aos 175 DAT (Figura 8). Tal fato mostra que as plantas aos 90 e 135 DAT possuíam uma menor espessura de folha, como foi mostrado na figura 13. Ao que tudo indica, os menores valores de FFF a partir dos 90DAT permitiram uma maior expansão das folhas do abacaxizeiro 'Vitória'.

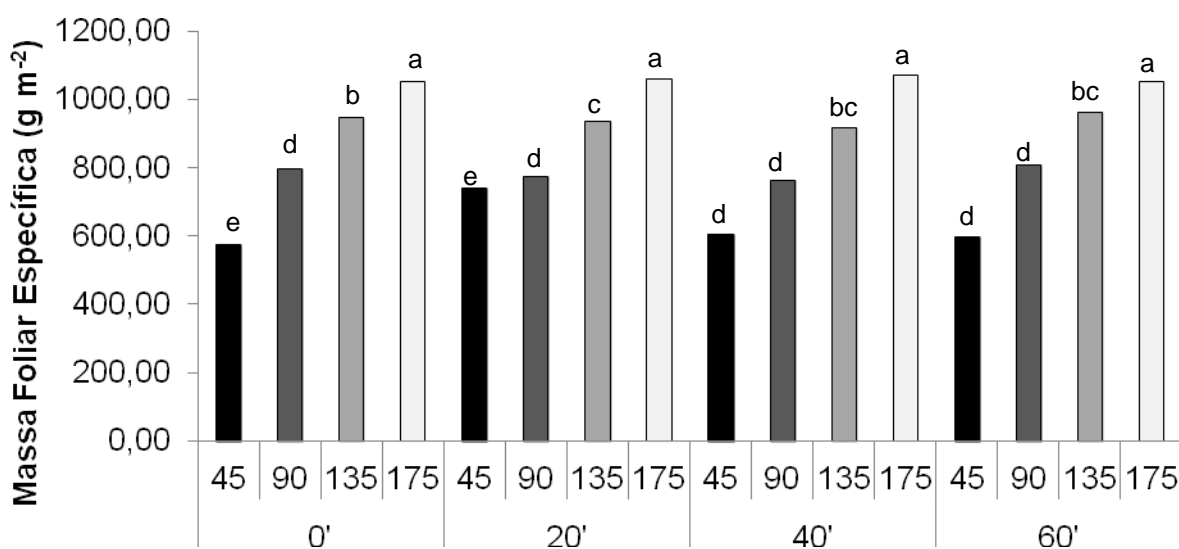


Figura 13. Massa foliar específica ( $\text{g m}^{-2}$ ) do abacaxizeiro cv Vitória nas épocas de análise dias após o transplante e tempos de imersão na solução de AIB para enraizamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Os resultados dos dados biométricos, da massa seca da parte aérea, da massa fresca da parte aérea, da massa seca de raiz, da área foliar, número de folhas, altura de planta, diâmetro da roseta e massa foliar específica foram utilizados na comparação entre as concentrações de AIB e o tratamento controle “sem raiz e sem AIB”. Ao analisar as figuras, não foram verificadas diferenças significativas entre os resultados do tratamento controle e as diferentes concentrações de AIB (Figuras 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 e, 21).

Alguns autores corroboram com os dados obtidos nesse experimento para o uso de AIB na indução de enraizamento do abacaxizeiro cv. Vitória, não influenciando nas variáveis testadas, conforme a não-significância mostrada em relação ao tratamento testemunha. Barboza et al. (2004), verificaram uma resposta similar para o híbrido de abacaxizeiro PE x SC-52, que apresentou 100% de enraizamento dos brotos na ausência de regulador de crescimento. Segundo os autores, o tamanho em torno de 4.0 cm da parte aérea dos brotos pode ter contribuído para o sucesso do enraizamento, juntamente, com a produção endógena de auxina.

Diferentes doses de AIB combinadas com diferentes períodos de dias, visando o enraizamento *in vitro* de *P. amabilis* foram testados. O resultado mostrou que as médias para a massa seca das raízes não foram significativas para AIB. No entanto, foram significativas para o fator tempo, não mostrando interação. Ori (2006), não observou diferença significativa para massa seca das folhas para os fatores tempo e tratamento e Augusto et al. (2006) não encontraram diferenças significativas entre os tratamentos com AIB em amoreira-preta, com relação ao comprimento de raízes, número de folhas e altura de planta.

Pompelli e Guerra (2006), trabalhando com solução aquosa contendo diferentes concentrações de AIB (0; 50; 100  $\mu\text{M}$ ) em diferentes períodos de indução (0; 60 min.), visando promover o enraizamento de brotos micropropagados de *Dyckia distachya* Hassler, verificaram que a porcentagem de enraizamento e o tamanho das raízes formadas *ex vitro* não foram significativamente influenciados pelo AIB.

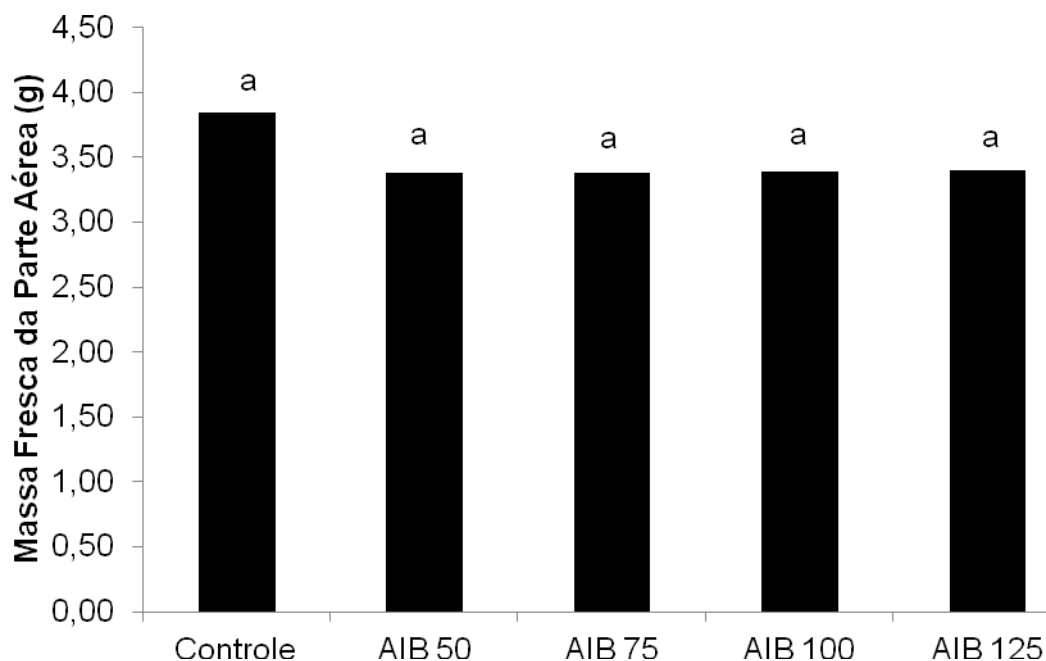


Figura 14. Massa fresca da parte aérea (g) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB para enraizamento, comparada com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Student 5%).

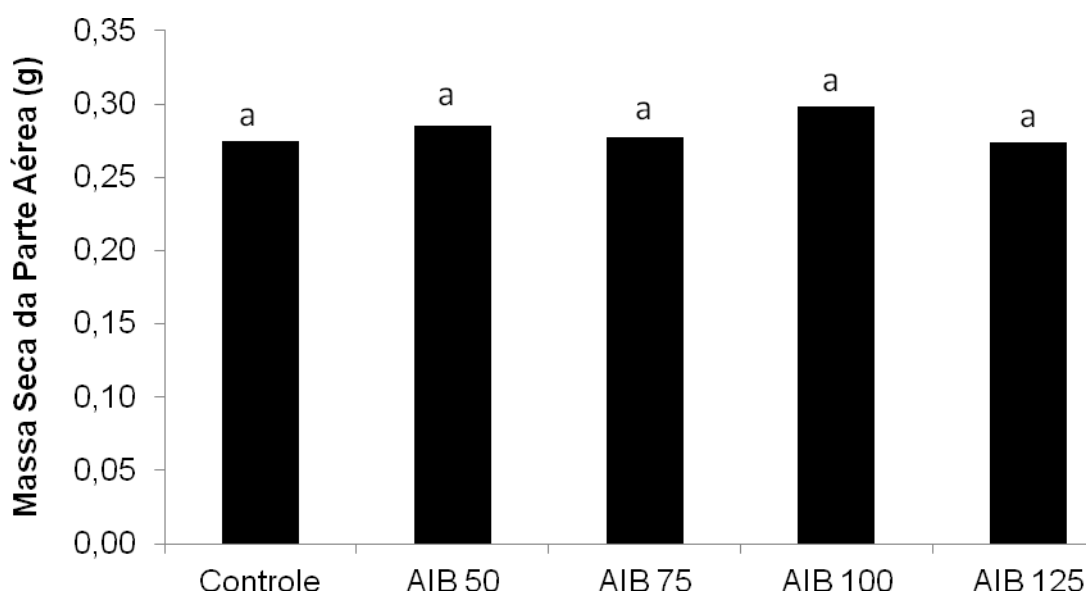


Figura 15. Massa seca da parte aérea (g) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB para enraizamento, comparada com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem

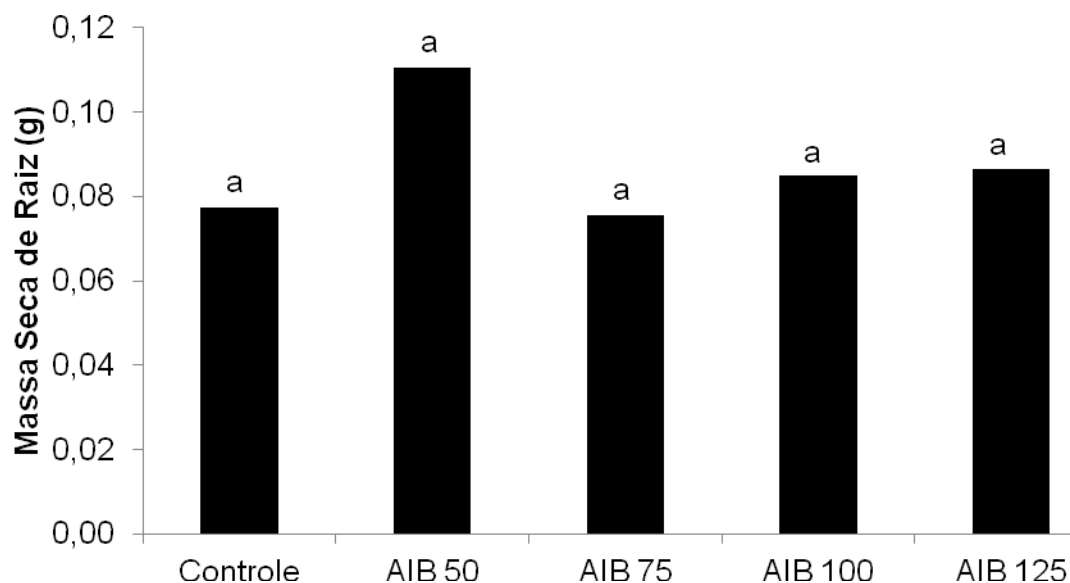


Figura 16. Massa seca de raiz (g) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB para enraizamento, comparada com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Student 5%).

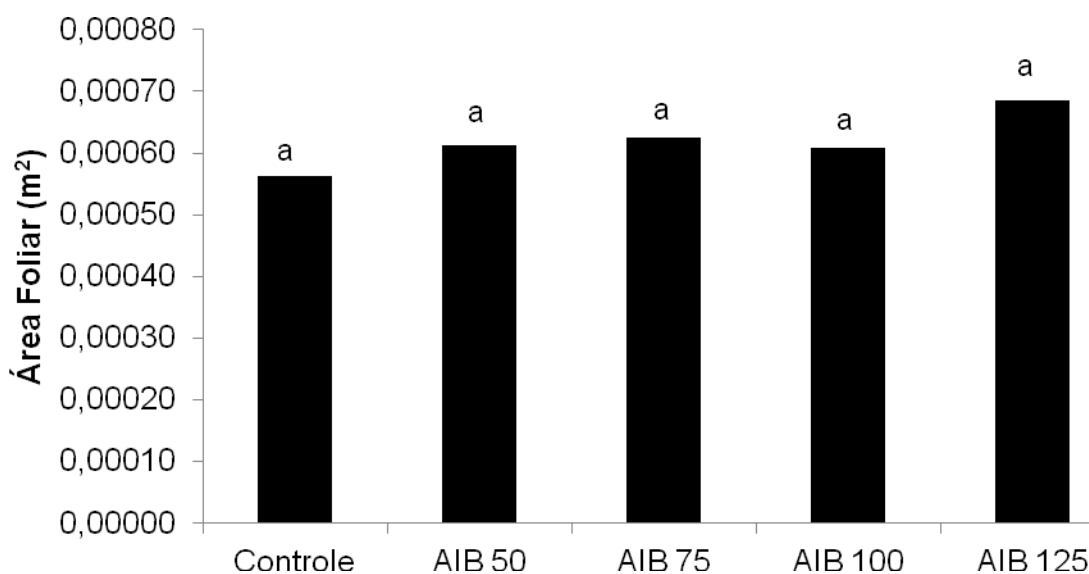


Figura 17. Área foliar (m<sup>2</sup>) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB para enraizamento, comparada com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Student 5%).

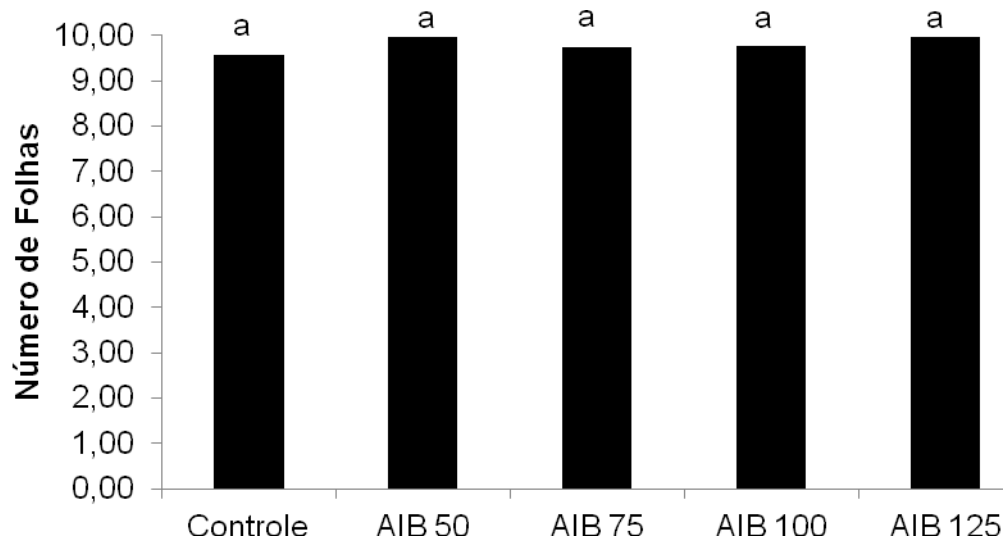


Figura 18. Número de folhas (n) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB para enraizamento, comparado com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Student 5%).

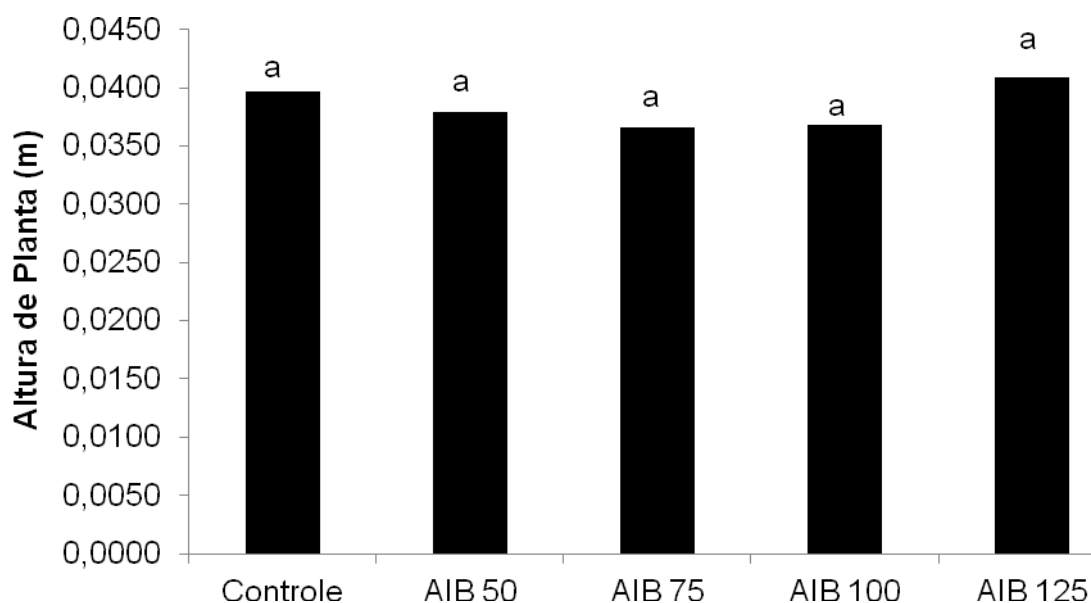


Figura 19. Altura de planta (m) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB para enraizamento, comparada com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Student 5%).

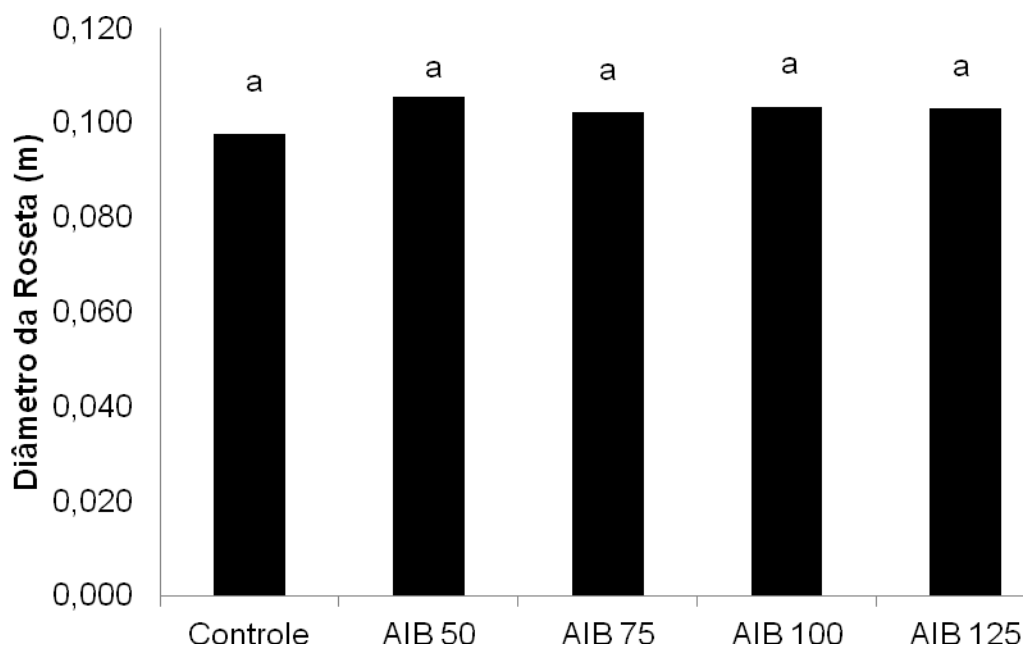


Figura 20. Diâmetro da roseta (m) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB para enraizamento, comparado com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Student 5%).

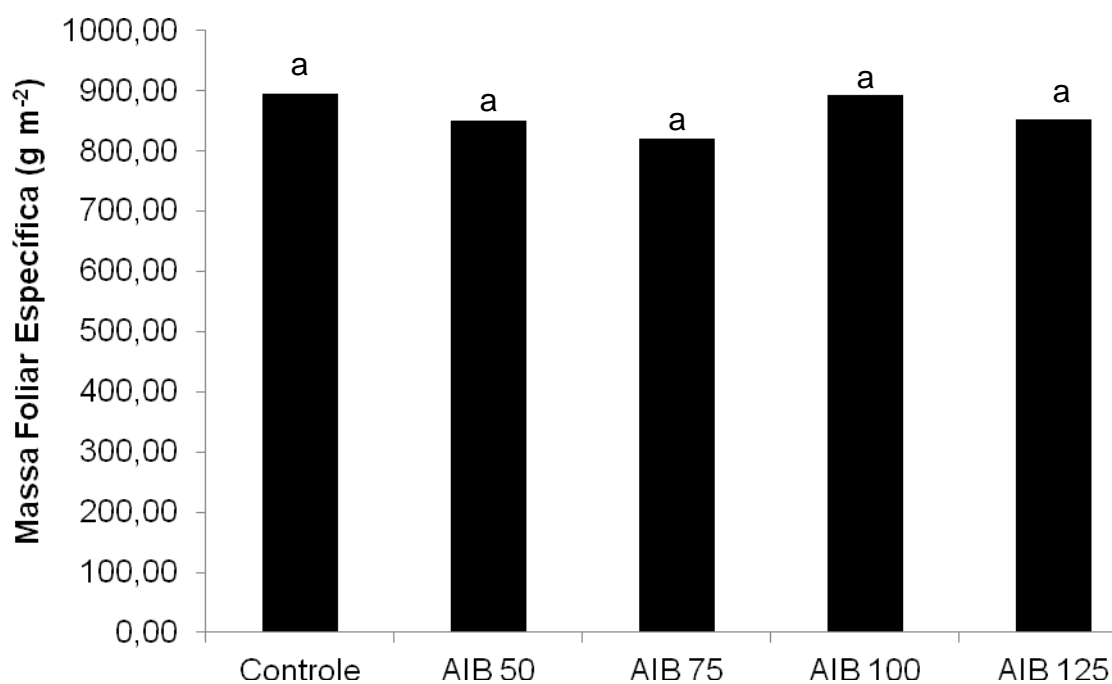


Figura 21. Massa foliar específica (g m<sup>-2</sup>) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB para enraizamento, comparada com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Student 5%).

Os resultados referentes à massa seca do sistema radicular mostram que o maior valor foi obtido com a aplicação de AIB na concentração de 50  $\mu\text{M}$  (Figura 22), indicando uma tendência de efeito inibitório para as concentrações acima desse valor.

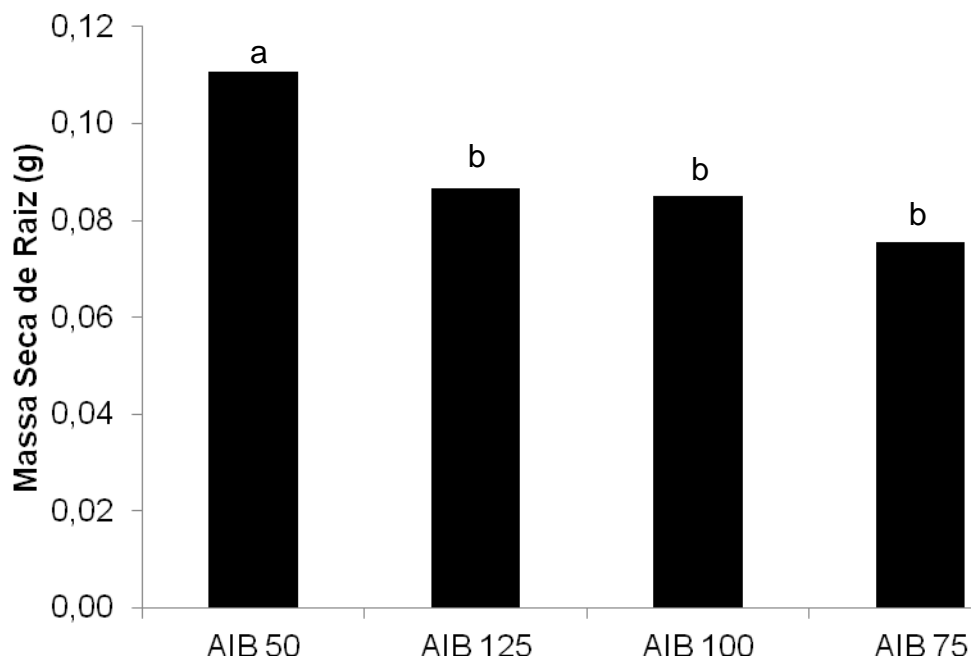


Figura 22. Massa Seca de Raiz (g) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB para enraizamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

#### 4.2. Capacidade fotossintética e relações hídricas

As avaliações fotossintéticas demonstraram alguns valores significativos para os parâmetros condutância estomática,  $F_v/F_m$ , taxa fotossintética, transpiração, intensidade de verde,  $DPV_{\text{folhas-ar}}$  e CRA (Figuras 23 a 35)

As Figuras 23 e 24 evidenciam que as médias de valores de condutância estomática para as plantas também foram diferentes entre os dias após o transplante. A maior condutância foi obtida para o período de 45 dias, enquanto os valores para as outras datas foram similares e menores (Figura 23).

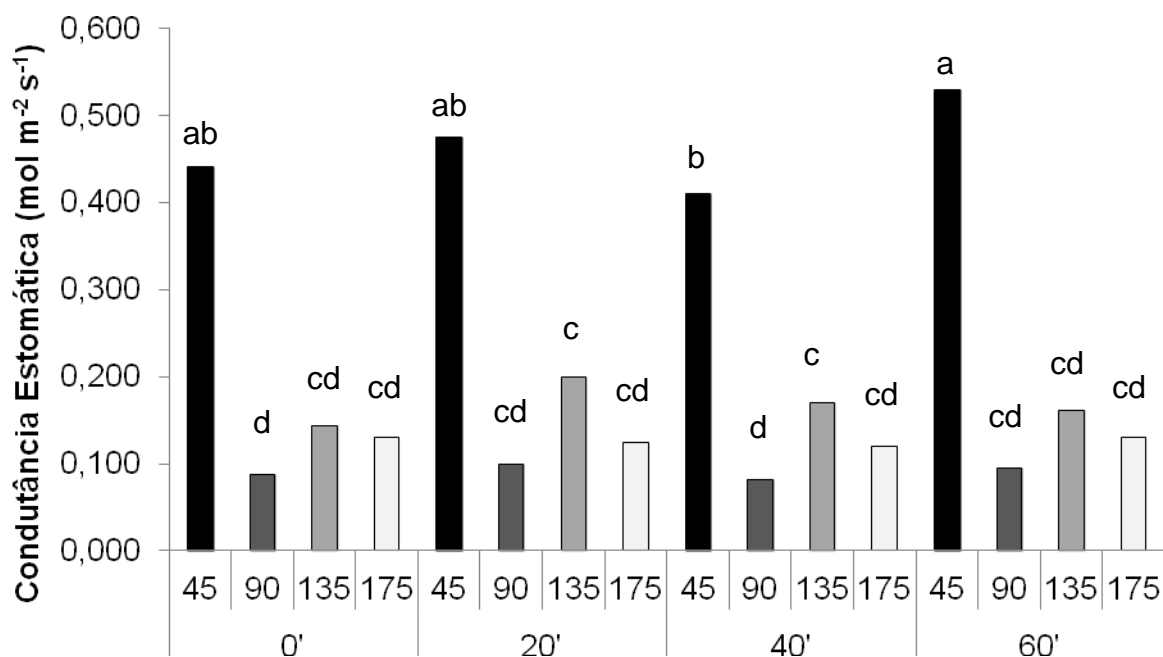


Figura 23. Condutância Estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) do abacaxizeiro cv Vitória nas análises dias após o transplântio e tempos de imersão na solução de AIB para enraizamento. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

A elevada condutância estomática durante o período de 45 dias após o transplântio indica que a planta estava se adaptando às condições do meio *ex vitro*, quanto à abertura estomática e regulação osmótica. De acordo com Díaz-Pérez et al. (1995), o reduzido controle estomático da planta, na fase inicial de aclimatização, é a principal causa promotora da alta condutância estomática foliar inicial e da rápida dissecação dos tecidos. Albert (2004), e Guerra e Nodari (2012) citam que plântulas na fase de aclimatização são desprovidas de cutícula na folha e possuem muitos estômatos não-funcionais. Desta maneira, quando estas plantas são expostas à condição *ex vitro*, ocorre elevada perda de água por meio de um mecanismo deficiente na abertura/fechamento estomático. Contudo, não se pode descartar o efeito, gradativo, da restrição do sistema radicular, ainda, pouco desenvolvido via produção de ácido abscísico. Uma vez que este fitormônio pode ser transportado das raízes para a parte



aérea, e assim causar um fechamento estomático (Carmi, 1995), assim, nessa fase inicial o pouco desenvolvimento do sistema radicular pode não estar contribuindo adequadamente para o funcionamento do mecanismo estomático.

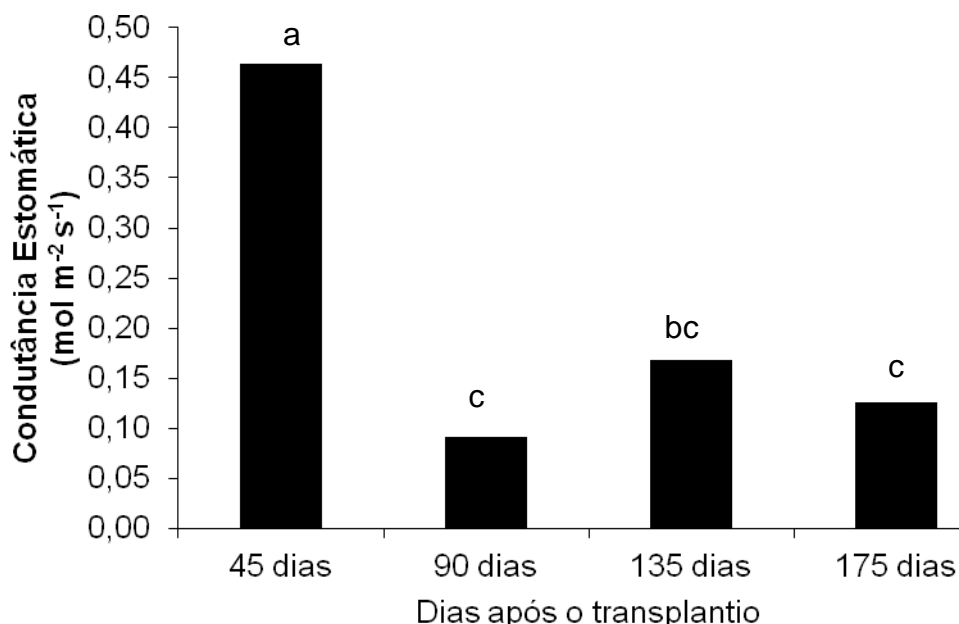


Figura 24. Condutância Estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) do abacaxizeiro cv Vitória nas análises dias após o transplante. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

A técnica da medição da fluorescência da clorofila **a** pode avaliar precocemente os efeitos de diferentes estresses, antes que os sintomas relacionados se tornem perceptíveis por outros métodos (Bolhàr- Nordenkampf, et al., 1989). A inativação reversível e irreversível da fotossíntese, as quais se relacionam às injúrias letais, que somente mais tarde se tornam aparentes, podem ser avaliadas *in vivo* pela fluorescência da clorofila **a** (Long et al., 1994 ; Araus e Hogan, 1994).

A Figura 25 mostra que independente do tempo de imersão das plântulas na solução de AIB, nas distintas concentrações, o rendimento quântico máximo potencial do FSII às 8 horas da manhã ( $F_v/F_m$ ) foi menor durante os primeiros 45 dias após o transplante. Esta redução na eficiência fotoquímica máxima pode ter sido causada por uma elevada luminosidade, para a competência fisiológica das plantas nesta época de cultivo (Figura 1).

Nesta época, as avaliações da emissão da fluorescência foram feitas nas folhas formadas ainda no ambiente *in vitro*, e estas folhas ainda estavam ajustando a maquinaria fotoquímica no ambiente *ex vitro*. Ou seja, possivelmente, tais folhas passaram por um estresse luminoso quando foram recém-transplantadas para o ambiente *ex vitro*, e aos 45 DAT já se encontravam adaptadas (valores de  $F_v/F_m > 0,75$ ), porém a maquinaria não estava completa como aos 90, 135 e 175 DAT.

Uma vez que a eficiência quântica máxima do FSII ( $F_v/F_m$ ) pode variar em uma faixa de 0,75 a 0,85 em plantas não-submetidas a estresses (Bolhar-Nordenkampf et al., 1989), pode-se observar que nenhum dos tratamentos causou comprometimento na eficiência quântica máxima do FSII.

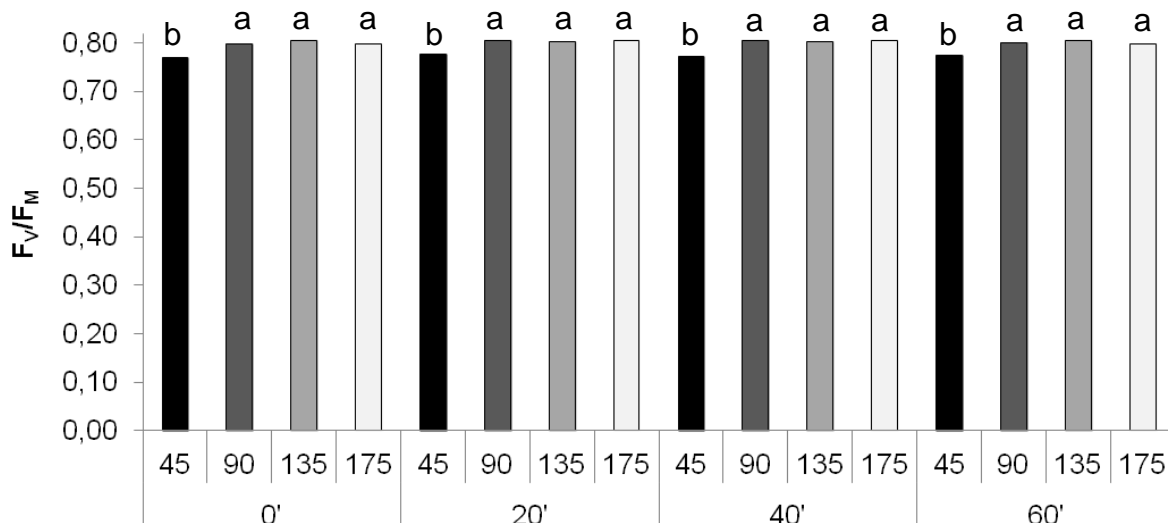


Figura 25. Máximo potencial do FSII ( $F_v/F_m$ ) do abacaxizeiro cv Vitória nas análises dias após o transplântio e tempos de imersão na solução de AIB. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

A Figura 26 mostra a comparação do rendimento quântico máximo do FSII para as plântulas em todas as concentrações de AIB, independente dos dias após o transplântio e dos tempos de imersão, comparados com o controle "sem raiz e sem AIB". Nesta figura, observa-se que a variável estudada apresentou valores similares aos do tratamento controle. Este resultado

evidência que independente da utilização de AIB o rendimento fotossintético da planta do abacaxizeiro cv. Vitória foi similar e se manteve na faixa ótima de eficiência (0,75 a 0,85) (Bolhar-Nordenkampf et al., 1989). Este valor de 0,75 a 0,85, mostra que existe uma probabilidade de 75 a 85% dos fótons que chegam ao FSII causem redução da quinona **a** (Qa) presente no FSII (Bolhar-Nordenkampf et al., 1989).

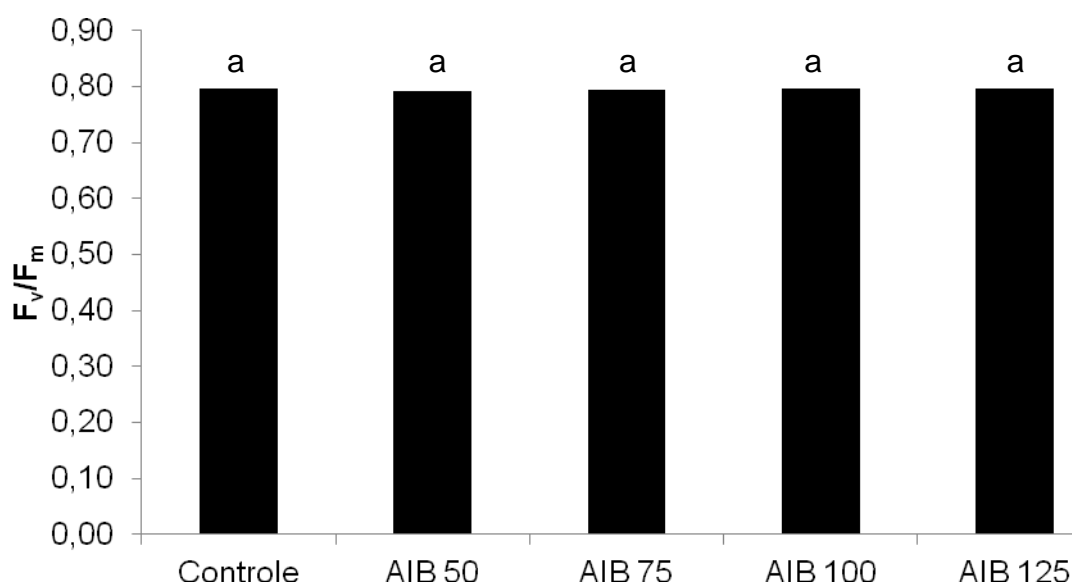


Figura 26. Rendimento quântico máximo potencial do FSII ( $F_v/F_m$ ) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB, comparado com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Os tempos de imersão relacionados aos dias após transplântio demonstram que a taxa fotossintética líquida, independente dos tempos de imersão, foi significativamente maior aos 45 dias (Figura 27). Esses resultados mostram a relação direta de A com  $g_s$  (Figuras 23 e 24), ou seja, os estômatos mais abertos aos 45 DAT permitiram a maior entrada de  $CO_2$ , e, desta maneira, proporcionaram maiores taxas fotossintéticas nesta época de cultivo. Uma vez que o valor da relação  $F_v/F_m$  foi maior que 0,75 (Figura 25), pode-se considerar que o que causou a redução na taxa fotossintética foram os efeitos estomáticos.

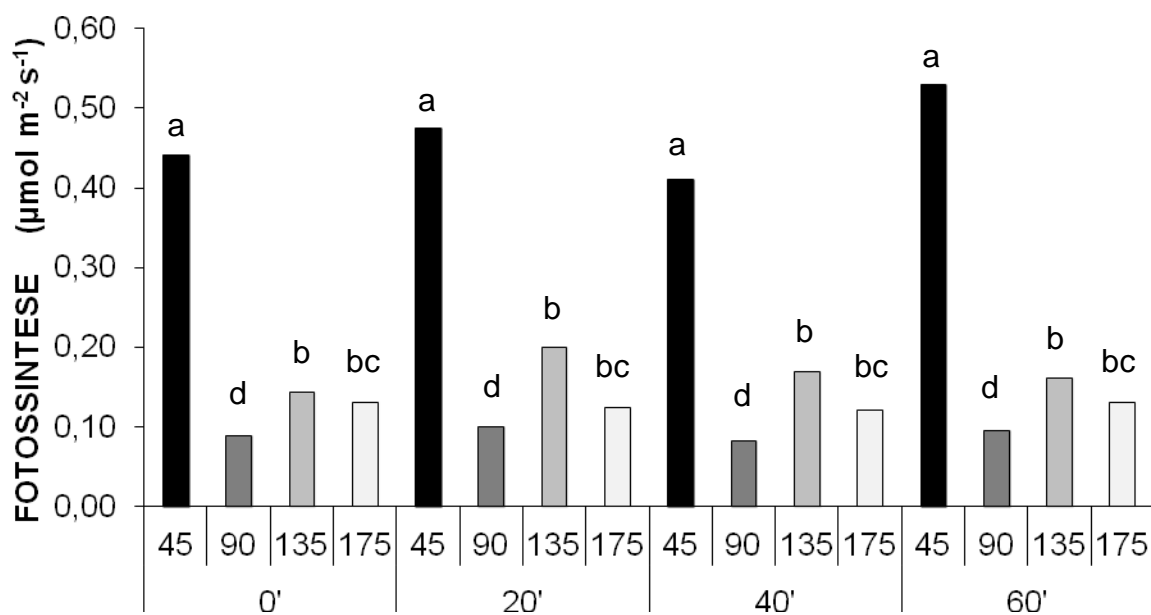


Figura 27. Taxa fotossintética líquida ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) do abacaxizeiro cv Vitória nas análises dias após o transplante e tempos de imersão na solução de AIB. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

A Figura 28 evidencia que as plantas tratadas com as concentrações de AIB tenderam a apresentar médias das taxas fotossintéticas menores que às do controle, embora essa diferença não tenha sido significativa para as concentrações de AIB. Este fato mostra que o uso do AIB não afeta a assimilação fotossintética do carbono das plantas do abacaxizeiro 'Vitória'.

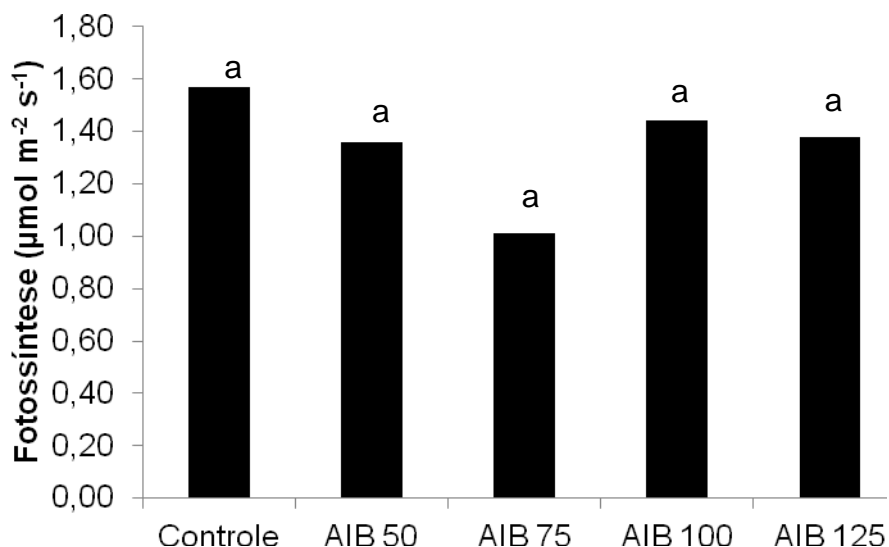


Figura 28. Taxa fotossintética líquida ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB, comparada com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Para as plantas de abacaxi nos quatro tempos de imersão em relação aos dias após transplântio, a variação na transpiração mostra que os maiores valores foram obtidos em todos os tempos de imersão para o período de 135 dias após o transplântio, destacando-se o tempo de 20 minutos como o mais eficiente (Figura 29).

Em abacaxizeiro os tricomas representam uma adaptação morfológica que atua de modo a restringir a perda de água pelas folhas, por meio da regulação da temperatura, e por meio da reflexão da luz que chega às folhas (Barboza et al., 2006). Na condição do experimento, tais estruturas podem ter permitido um acúmulo de água entre os tricomas e esta água presente ao evaporar, poderia ter superestimado os valores da taxa transpiratória durante as medidas.

Com relação aos tricomas, a presença dessas estruturas pode explicar o bom desempenho (alta porcentagem de sobrevivência) desta espécie durante a passagem da condição *in vitro* para a condição *ex vitro*, uma vez que os espaços entre estas estruturas podem se constituir em um importante local para armazenar água na forma de vapor e/ou água líquida.

Na condição *ex vitro*, em plantas da cv. IAC 'Gomo-de-mel', verificou-se a presença de tricomas escamiformes (escamas) em ambas as superfícies foliares, recobrando os estômatos. A presença dessas escamas demonstra uma adaptação morfológica que favorece a manutenção da assimilação de CO<sub>2</sub> e da água, uma vez que diminuem o contato direto da superfície estomática com o ambiente (Batagin et al., 2009). A desidratação é causada pela elevada perda de água pelas plantas, principalmente nas folhas, ou absorção inadequada de água pelas raízes e, em geral, é o maior problema no processo de aclimatização (Guerra e Nodari, 2012).

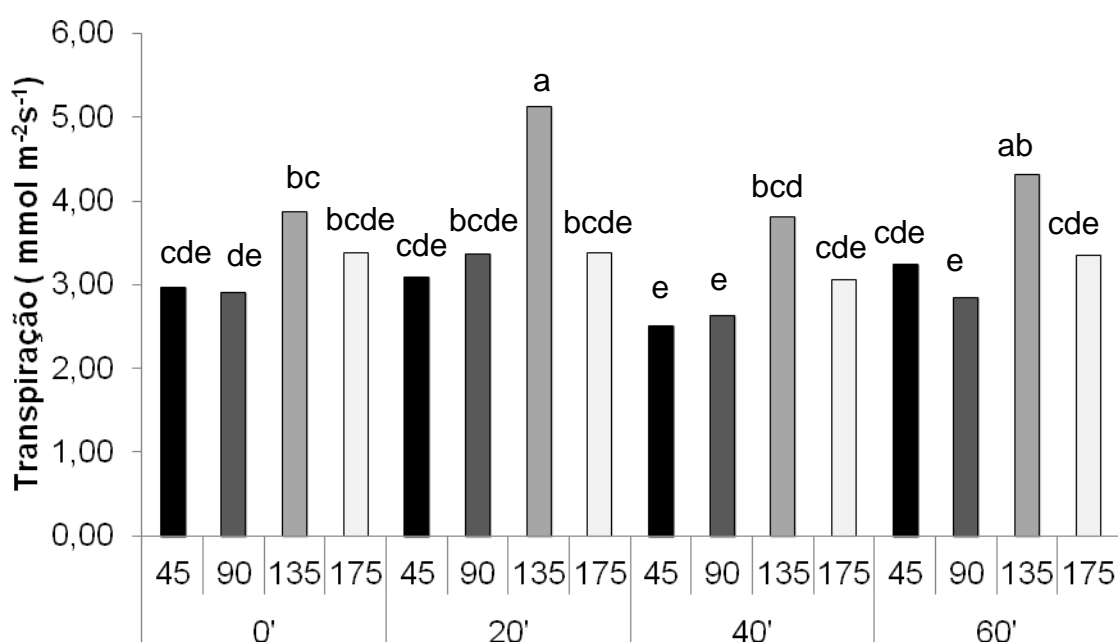


Figura 29. Transpiração (mmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) do abacaxizeiro cv Vitória nas análises dias após o transplante e tempos de imersão na solução de AIB. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

A intensidade de verde representa a concentração de clorofila na folha (figura 30). Os maiores valores desta intensidade de verde estão correlacionados positivamente com o teor de clorofilas nas folhas de diversas espécies (Chang e Robison, 2003). Os reduzidos valores da intensidade de verde encontrados nas plantas cultivadas aos 45 DAT podem estar associados a dano fotoinibitório causado nas folhas recém-saídas do ambiente *in vitro*. Como relatado anteriormente, tais folhas apresentaram, mesmo que tenha sido um valor próximo de 0,75 da variável  $F_v/F_m$  (Figura 25), um valor desta relação

inferior aos das demais épocas estudadas. Este fato pode justificar o valor mais baixo de IV, em relação às demais épocas de cultivo.

A intensidade de verde obtida pelo medidor portátil de clorofila pode estimar o teor de clorofila nas folhas (Torres Netto et al., 2005; Jesus e Marengo, 2008), sendo estes teores bons indicadores do nível de estresse associados ao metabolismo do N em algumas espécies (Torres Netto et al. 2002, 2005).

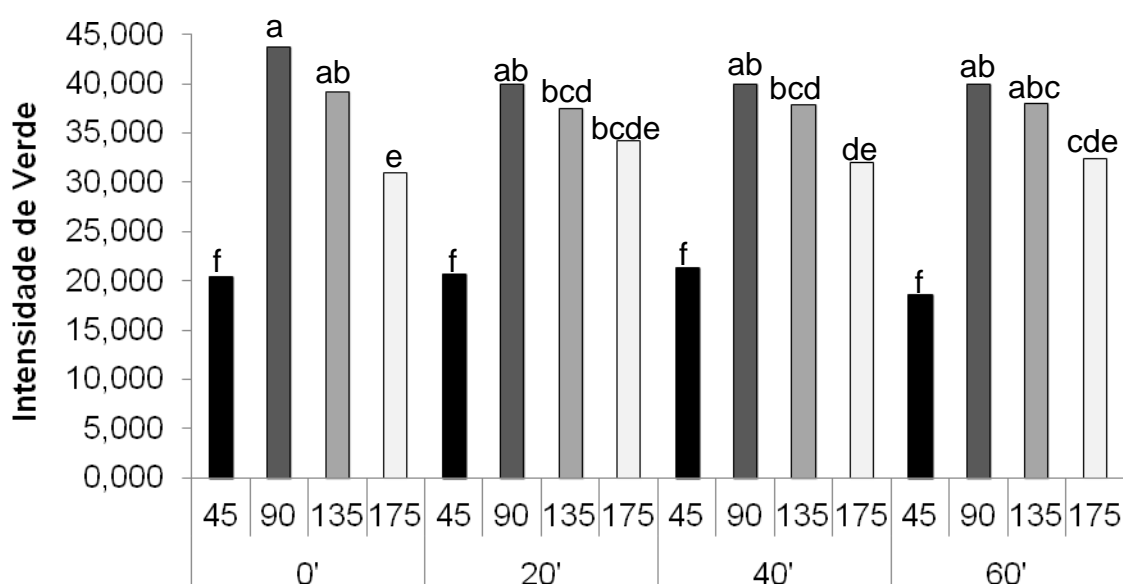


Figura 30. Intensidade de verde do abacaxizeiro cv Vitória nas análises dias após o transplante e tempos de imersão na solução de AIB. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Os valores do conteúdo relativo de água (Figura 31), de um modo geral foram menores aos 45 DAT.

Nesse contexto, pode-se inferir que para 45 DAT as plantas apresentaram menor controle hídrico, que é característico de plantas em adaptação a um novo ambiente. Nesta época, o controle estomático não estava totalmente eficiente, como foi mostrado pelos resultados da condutância estomática (Figura 23).

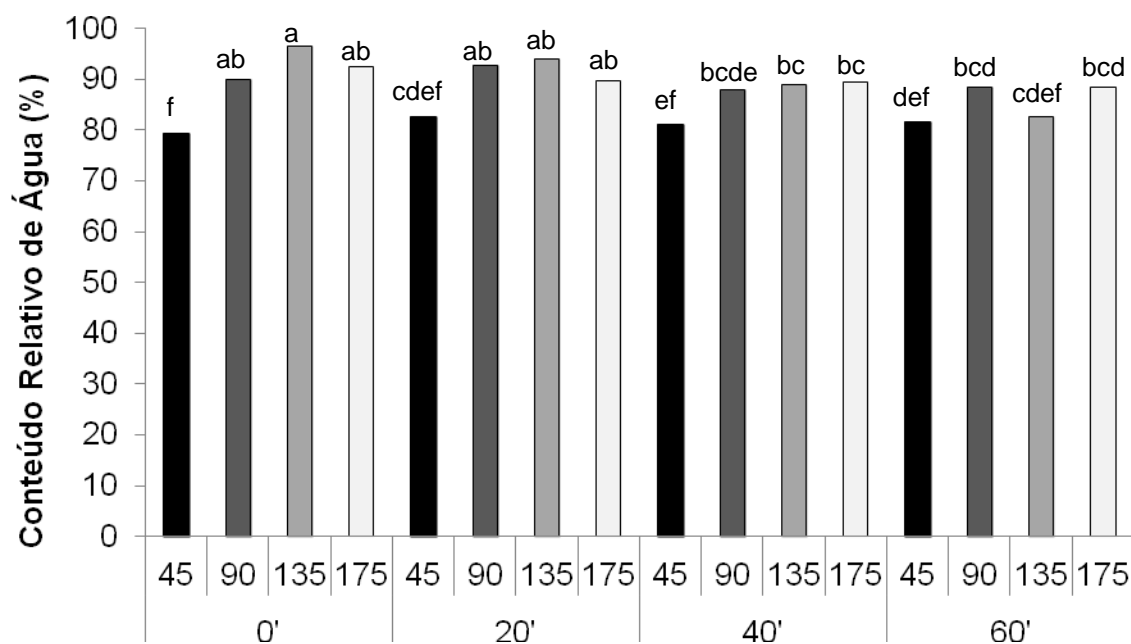


Figura 31. Conteúdo relativo de água (%) do abacaxizeiro cv Vitória nas análises dias após o transplântio e tempos de imersão na solução de AIB. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

Quando a comparação dos valores do conteúdo relativo de água (CRA) foi realizada contrastando os valores obtidos para o controle, e para as distintas concentrações de AIB, independente do tempo de imersão e dos dias após transplântio, pode ser evidenciado que o controle “sem raiz e sem AIB” apresentou menor média para o conteúdo relativo de água em relação às concentrações de AIB (Figura 32). Estes resultados foram significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) quando comparados aos obtidos para as concentrações de AIB.



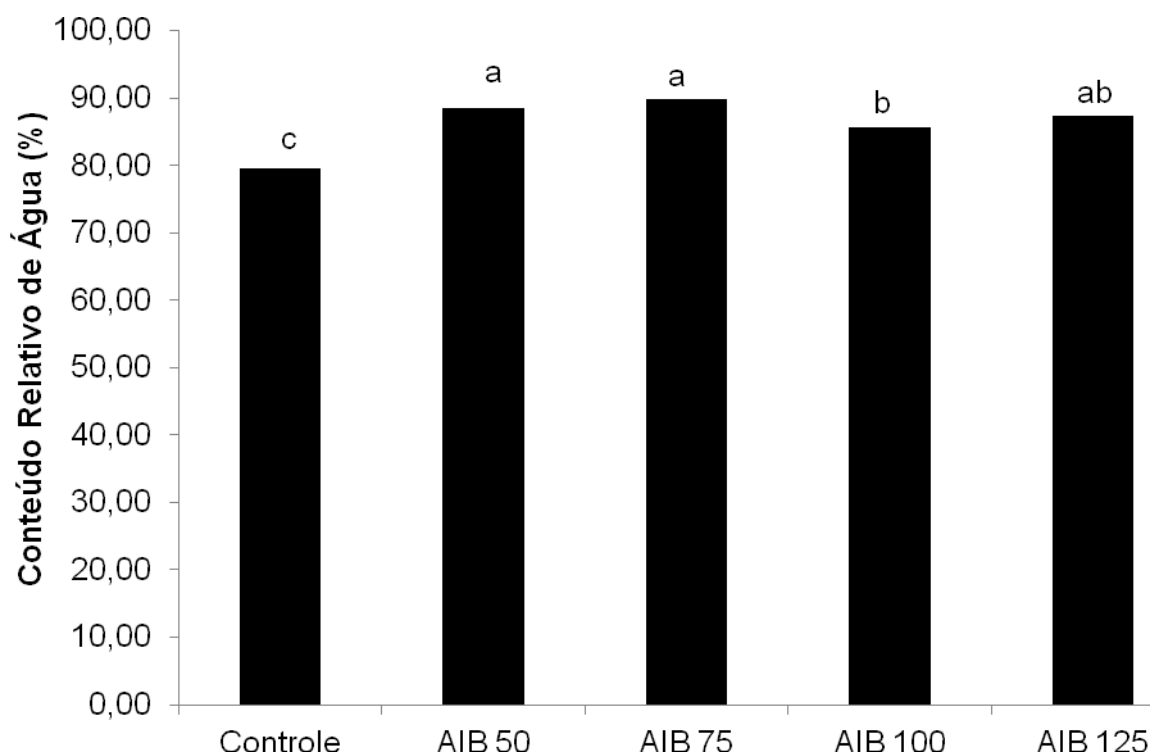


Figura 32. Conteúdo relativo de água (%) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB, comparado com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

As variáveis transpiração e intensidade de verde não apresentaram diferenças significativas para as concentrações de AIB e o tratamento controle (Figura 33 e 34). Indicando não se justificar a utilização do indutor de enraizamento AIB para essa cultivar de abacaxi, o que poderia economizar tempo, espaço e recursos.

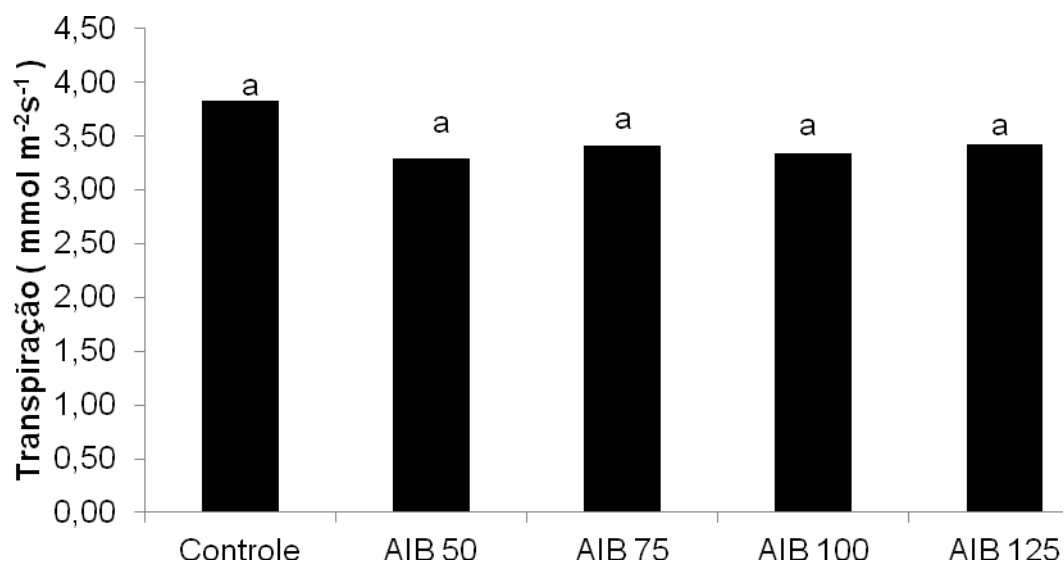


Figura 33. Transpiração (mmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB, comparada com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

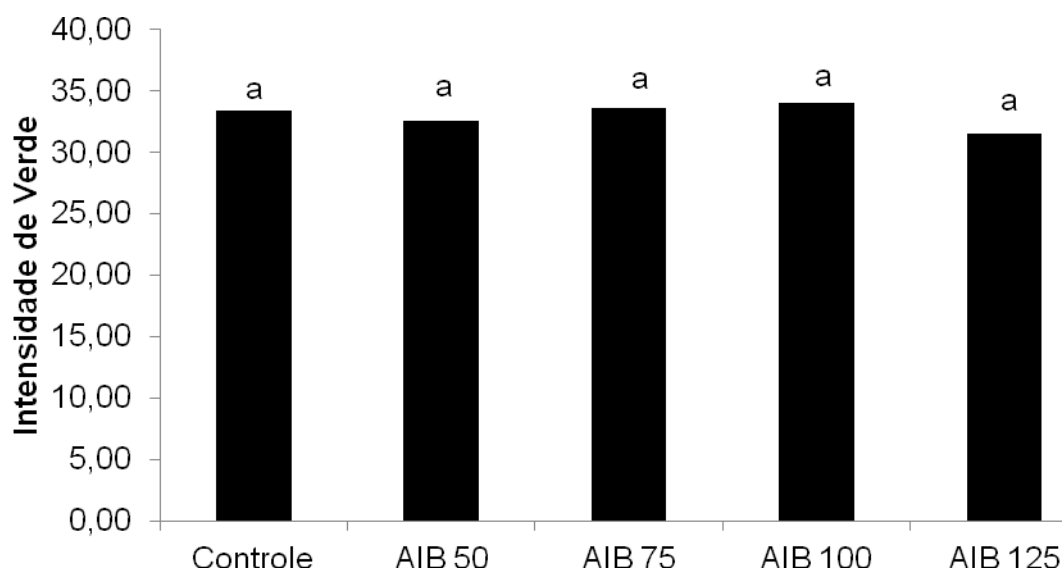


Figura 34. Intensidade de verde do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB, comparada com o controle (sem Raiz e sem AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

O déficit de pressão de vapor ( $DPV_{\text{folha-ar}}$ ) foi significativamente maior em 45 dias após o transplante, independente do tempo de imersão em AIB (Figura 35). Este resultado pode ter sido obtido devido à elevada intensidade luminosa e da temperatura do ar no período de 45 dias após transplante (Figura 1 e 2). O aumento na temperatura das folhas, ocasionado pelo aumento da temperatura do ar e do elevado FFF pode levar a um aumento no déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar ( $DPV_{\text{folha-ar}}$ ) (Nobel, 1991). Contudo, quando a comparação foi realizada entre o controle e as concentrações de AIB, não houve diferença significativa entre as médias de  $DPV$  (Figura 36).

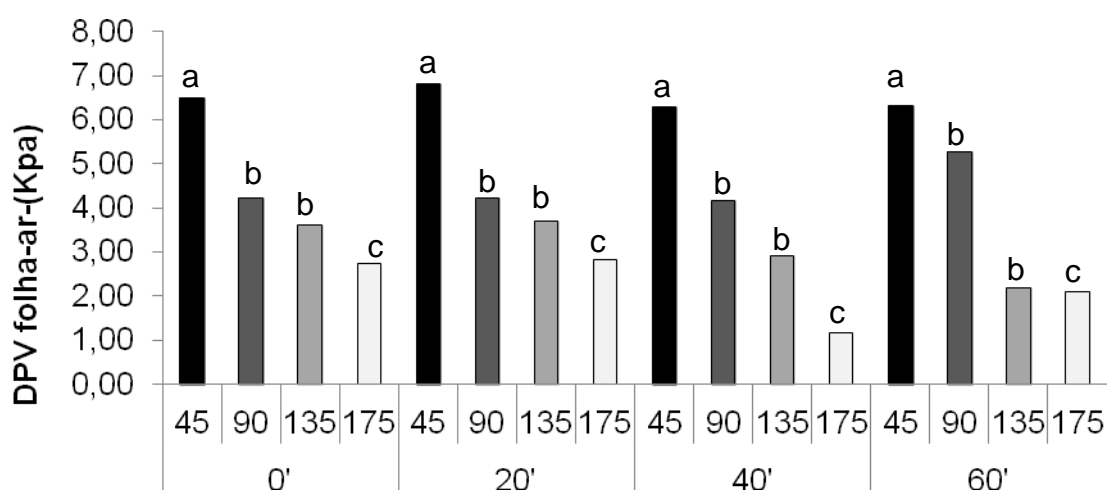


Figura 35. Déficit de pressão de vapor ( $DPV_{\text{folha-ar}}$ ) (Kpa) do abacaxizeiro cv Vitória nas análises após o transplante e tempos de imersão na solução de AIB. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

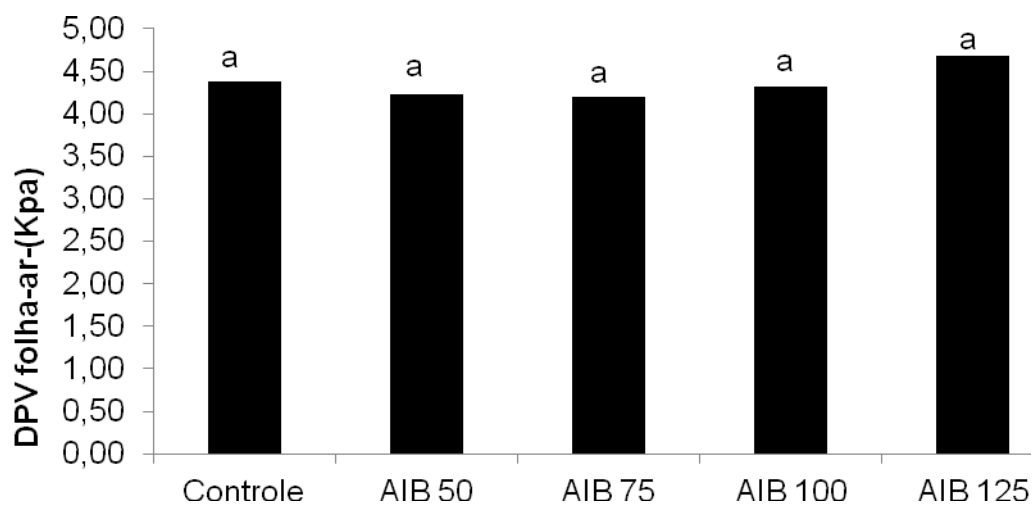


Figura 36. Déficit de pressão de vapor ( $DPV_{\text{folha-ar}}$ ) (Kpa) do abacaxizeiro cv Vitória nas diferentes concentrações de AIB, comparado com o controle (sem Raiz e AIB). Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%).

## 5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nesta investigação, foi observado que o tempo de imersão das brotações, provenientes do cultivo *in vitro* nas diferentes soluções de AIB estudadas, não influenciou na capacidade de enraizamento das plantas da cultivar Vitória, quando crescidas em condição *ex vitro*.

Para a cultivar estudada, não houve efeito estatístico significativo da aplicação de AIB nas concentrações 50, 75, 100 e 125  $\mu\text{M}$  sobre o enraizamento nas plantas cultivadas em condição *ex vitro*.

Os tratamentos aplicados não causaram efeitos estatísticos significativos nas características de capacidade fotossintética/relações hídricas e nas medidas biométricas estudadas.

Dessa maneira, infere-se que, para a cultivar Vitória, nas condições em que foi realizada a investigação, pode-se realizar a indução de enraizamento na condição *ex vitro*, sem a presença de regulador de crescimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adelberg, J.; Fujiwara, K.; Kirdmanee, C.; Kozai, T. (1999) Photoautotrophic shoot and root development for triploid melon. *Plant cell, Tissue and Organ Culture*, 57(2): 95-104.
- Albert, L. H. B. (2004) *Aspectos morfo-anatômicos de mudas de abacaxizeiro 'Smooth Cayenne' micropropagadas*. Tese (Doutorado em Agronomia) – Lavras/MG, Universidade Federal de Lavras. 51p.
- Amâncio, S.; Rebordão, J.P; Chaves, M.M. (1999) Improvement of acclimatization of micropropagated grapevine: photosynthetic competence and carbon allocation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 58:31-37.
- Aragon, C.; Carvalho, L.; González, J.; Escalona, M.; Amancio, S. (2012) The physiology of *ex vitro* pineapple (*Ananas comosus* L. Merr. Var MD-2) as CAM or C3 is regulated by the environmental conditions. *Plant Cell Report.*, 31(4):757-769.
- Araus, J.L., Hogan, K.P. (1994). Comparative leaf structure and patterns of photoinhibition of the neotropical palms. *Scheelea zonensis* and *Socratea durissima* growing in clearings and forest understory during the dry season in Panama. *American Journal of Botany* 81 (6): 726-738.
- Arigita, L.; Gonzalez, A.; Tamés, R. S. (2002) Influence CO<sub>2</sub> and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinia deliciosa* explants cultured *in vitro*. *Physiologia Plantarum*, 115(1):166-173.

- Augusto, C. S. S.; Biasi, L. A.; Telles, C. A. (2006) Enraizamento e aclimação de plantas micropropagadas de amoreira-preta cv. Brazos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28(3):473-476.
- Bag, N.; Chandra, S.; Palni, L. M.S.; Nandi, S.K. (2000). Micropropagation of Devringal [*Thamnocalamus spathiflorus* (Trin.) Munro] – a temperate bamboo, and comparison between *in vitro* propagated plants and seedlings. *Plant Science* 156:125-135.
- Barbosa, N. M. L.; Cunha, G. A. P.; Reinhardt, D. H.; Barros, P.G.; Santos, A. R. L. (2003) Indução de alterações morfológicas e anatômicas em folha de abacaxizeiro 'Pérola' pelo ácido 2-(3-clorofenoxi) propiônico. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(3):386-389.
- Barboza, S. B. S. C.; Graciano-Ribeiro, D.; Teixeira, J. B.; Portes, T. A.; Souza, L. A. C. (2006). Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(2):185-194.
- Barboza, S. V. S. C.; Caldas, L. S.; Souza, L. A. C. (2004). Micropropagação do híbrido PExSC-52 e da cultivar Smooth Cayenne de abacaxizeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(8):725-733.
- Batagin, K. D.; Almeida, C. V.; Tanaka, F. A. O.; Almeida, M. (2009). Alterações morfológicas foliares em abacaxizeiro cv. IAC "Gomo-de-mel" micropropagadas e aclimatizadas em diferentes condições de luminosidade. *Acta Botanica Brasílica*, 23(1):85-92.
- Batková, P.; Pospíšilová, J.; Synková, H. (2008). Production of reactive oxygen species and development of antioxidative systems during *in vitro* growth and *ex vitro* transfer. *Biologia Plantarum* 52(3):413-422.
- Berilli, S. S. (2010) *Aclimação de mudas micropropagadas e caracterização físico-química e sensorial de frutos de abacaxi*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes/RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. 117p.
- Bolhar-Nordenkamp, H. R.; Long, S. P.; Baker, N. R.; Oquist, G.; Schreiber, U.; Lechner, E. G. (1989) Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic

- competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecology*, 3:497-514.
- Borkowska, B. (2001) Morphological and physiological characteristics of micropropagated strawberry plants rooted *in vitro* or *ex vitro*. *Scientia Horticulturae*, 89(3):195-206.
- Braga, F. T.; Pasqual, M.; Castro, E. M.; Rafael, G. C. (2011). Características morfológicas de abacaxizeiro 'Gomo de Mel' enraizado *in vitro* sob luz natural e substrato vermiculita. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(2):551-557.
- Brainerd, K.E.; Fuchigami, L. J.; Kwiatkowski, C. S. (1981) Leaf anatomy and water stress of aseptically cultured 'Pixy' plum grown under different environment. *HortScience*, 16(2):173-175.
- Brainerd, K.E.; Fuchigami, L.H. (1981) Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 106(4):515-518.
- Bregonci, I. S.; Reis, E. F.; Almeida, G. D.; Brum, V. J.; Zucoloto, M. (2008a) Avaliação do crescimento foliar e radicular de mudas micropropagadas do abacaxizeiro cv. Gold em aclimação. *Idesia*, 26(3):87-96.
- Bregonci, I. S.; Schmildt, E. R.; Coelho, R. I.; Reis, E. F.; Brum, V. J.; Santos, J. G. (2008b) Adubação foliar com macro e micronutrientes no crescimento de mudas micropropagadas do abacaxizeiro cv. Gold (*Ananas comosus* L. Merrill) em diferentes recipientes. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(3):705-711.
- Calvete, E. O.; Azevedo, M.; Bordignon, M. H.; Suzin, M. (2002) Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas *in vitro* e *ex vitro*. *Horticultura Brasileira*, 20(4):649-653.
- Carmi, A (1995) Growth, water transport and transpiration in root-restricted plants of bean, and their relation to abscisic acid accumulation. *Plant Science* 107: 69-76.



- Capellades, M.; Fontarnau, R.; Carulla, C.; Debergh, P. (1990) Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue-cultured *Rosa multiflora*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115(1):141-145.
- Carvalho, A. C. P. P.; Pinheiro, M. V. M.; Dias, G. M. G.; Morais, J. P. S. (2009) Multiplicação *in vitro* de abacaxi ornamental por estiolamento e regeneração de brotações. *Horticultura Brasileira*, 27:103-108.
- Carvalho, L. C.; Amâncio, S. (2002). Antioxidant defense system in plantlets transferred from *in vitro* to *ex vitro*: effects of increasing light intensity and CO<sub>2</sub> concentration. *Plant Science*, 162(1):33-40.
- Chang, S.X., Robison, D.J. (2003) Nondestructive and rapid estimation of hardwood foliar nitrogen status using the SPAD- 502 chlorophyll meter. *Forest Ecology and Management*, 181(3):331-338.
- Chenevard, D.; Frossard, J.S.; Allemand, C.J. (1997) Carbohydrate reserves and CO<sub>2</sub> balance of hybrid walnut (*Juglans nigra* no. 23 x *Juglans regia*) plantlets during acclimatization. *Scientia Horticulturae*, 68:207-217.
- Chu, E. P.; Tavares, A. R.; Kanashiro, S.; Giampaoli, P.; Yokata, E. S. (2010) Effects of auxins on soluble carbohydrates, starch and soluble protein content in *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae) cultured *in vitro*. *Scientia Horticulturae*, 125:451-455.
- Clarkson, D. T. (1985) Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 36: 77-115.
- Coelho, R. I.; Carvalho, A. J. C.; Thiebaut, J. T. L.; Lopes, J. C. (2009) Brotação de gemas em secções de caule de abacaxizeiro 'Smooth Cayenne' tratadas com reguladores de crescimento. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 31(1):203-209.
- Couto, T. R.; Carvalho, V. S.; Rossi, D. A.; Ferreira, G. M.; Athayde, M. O. (2010a) *Estabelecimento in vitro de gemas apicais e axilares do abacaxizeiro cultivar*

*Gold*. In: XXI Congresso Brasileiro de Fruticultura. Anais do XXI Congresso Brasileiro de Fruticultura. Natal-RN.

Couto, T. R.; Toyoda, P. R.; Carvalho, V. S.; Athayde, M. O. (2010b) Rossi, D. A.; Ferreira, G. M.; Torres-Netto, A. *Otimização de protocolo para propagação vegetativa in vitro do abacaxizeiro cultivar Gold*. In: XXI Congresso Brasileiro de Fruticultura. Anais do XXI Congresso Brasileiro de Fruticultura. Natal-RN,

Cruz, J. L.; Coelho, E. F.; Pelacini, C. R.; Coelho Filho, M. A.; Dias, A. T.; Santos, M. T. (2004) Crescimento e partição de matéria seca e de carbono no mamoeiro em resposta à nutrição nitrogenada. *Bragantia*, 63(3):351-361.

Cui, Y.Y. et al. (2000) Number of air exchanges, sucrose concentration, photosynthetic photon flux, and differences in photoperiod and dark period temperatures affect growth of *Rehmannia glutinosa* plantlets *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 62:219-226.

Cunha, A. C. M. C. M.; Wendling, I.; Souza Júnior, L. (2004) Influência da concentração do regulador de crescimento para enraizamento AIB na formação de mudas de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax por estaquia. *Boletim Pesquisa Florestal*, 49:17-29.

Cunha, G. A. P. (1999). Aspectos agroclimáticos. In: Cunha, G. A. P.; Cabral, J. R. S.; Souza, L. F. S. (Orgs.). *O abacaxizeiro, cultivo, agroindústria e economia*. Brasília: Comunicação para transferência de tecnologia, p. 55-66.

Cunha, G. A. P.; Cabral, J. R. S. (1999). Taxonomia, espécies, cultivares e morfologia. In: Cunha, G. A. P.; Cabral, J. R. S.; Souza, L. F. S. (Orgs.). *O abacaxizeiro, cultivo, agroindústria e economia*. Brasília: Comunicação para transferência de tecnologia, p. 17-51.

Cunha, G. A. P.; Reinhardt, D. H. R. C. (2004) *Manejo de mudas de abacaxi*. Cruz das Almas, EMBRAPA. Comunicado Técnico, 105.

- Cuquel, F. L.; Granja, N. P.; Minami, K. (1992) Avaliação do enraizamento de estacas de crisântemo (*Chrysanthemum morifolium* L.) cv. White Reagan 606 tratadas com ácido indolbutírico (AIB). *Scientia Agrícola*, 49(1):15-22.
- Deng, R.; Donnely, D. (1993) *In vitro* hardening of red raspberry by CO<sub>2</sub> enrichment and reduced medium sucrose concentration. *Hortscience*, 28(10):1048-1051.
- Deng, R.; Donnely, D. A.M. (1996) Effects of light, magnesium and sucrose on leaf anatomy, photosynthesis, starch and total sugar accumulation, in kiwifruit cultured *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 47(2):127-134.
- Desjardins, Y.; Gosselin, A.; Yelle, S. Acclimatization of *ex vitro* strawberry plantlets in CO<sub>2</sub> - enriched environments and supplementary lighting. (1987) *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 122(5):846-851.
- Díaz-Pérez, J.C.; Shackle, K.A.; Sutter, E.G. (1995) Effects of *in vitro*-formed roots and acclimatization on water status and gas exchange of tissue-cultured apple shoots. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120(3):435-440.
- Dimassi-Theriou, K.; Bosabalidis, A.M. (1997) Effects of light, magnesium and sucrose on leaf anatomy, photosynthesis, starch and total sugar accumulation, in kiwifruit cultured *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 47:127-134.
- Erig, A. C.; Schuch, M. W. (2005) Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. *Ciência Rural*, 35(4): 961-965.
- Evans, G. C. (1972) *The quantitative analysis of plant growth*. Califórnia: Blackwell Scientific Publications. 690p.
- Feitoza, H. O. (2010) *Crescimento e extração de nutrientes pelo abacaxizeiro cv. Vitória sob doses crescentes de micronutrientes em dois tipos de coberturas do solo*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Fortaleza/CE, Universidade Federal do Ceará. 108p.
- Fila, G.; Badeck, F-W.; Meyer, S.; Cerovic, Z.; Ghashgahaie, J. (2006) Relationships between leaf conductance to CO<sub>2</sub> diffusion and photosynthesis in

- micropropagated grapevine plants, before and after *ex vitro* acclimatization. *Journal of Experimental Botany*, 57(11): 2687-2695.
- Folliot, M.; Marchal, J. (1990) Influence du support de culture sur la vitesse de croissance *in vitro* des plantes d'ananas emphase d'acclimation. *Fruits*, 45:367-376.
- Freitas, S. J. (2010) *Brassinosteróides e adubação no desenvolvimento, crescimento e nutrição de mudas de abacaxizeiro*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes/RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. 101p.
- Fuchigami, L.H.; Cheng, T.Y.; Soeldner, (1981) A. Abaxial transpiration and water loss in aseptically cultured plum. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 106(4): 519-522.
- Genty, B., Briantais, J.M., Baker, N.R. (1989). The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*. 990: 87-92.
- George, E.F. (2008) Plant tissue culture procedure – background. In: George, E.F., Hall, M.A., De Klerk, G.J. *Plant Propagation by Tissue Culture*. 3rd Edition. Springer, v.1, p.423-464.
- George, E.F. (1993) *Propagation by tissue culture: The technology*, 2. Ed. Edington: exegetics. 1574p.
- Gonzalez-Olmedo, J. L.; Fundora, Z.; Molina, L. A.; Abdulnour, J.; Desjardins, Y.; Escalona, M. (2005) New contributions to propagation of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) in temporary immersion bioreactors. *In Vitro Cellular Developmental Biology Plant*, 41:87-90.
- Grattapaglia, D.; Machado, M. A. (1998) Micropropagação. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S.; Buso, J. A. *A cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPH, 1998. v.1, p.183-260.
- Guerra, M. P.; Nodari, R. O. *Biotecnologia Vegetal - Material didático*. Disponível em: <<http://www.cca.ufsc.br/lfdgv/Apostila.htm>>. Acesso em: 01 maio 2012.

- Guerra, M. P.; Vesco, L. L. D.; Pescador, R.; Schuelter, A. R.; Nodari, R. O. (1999). Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34(9):1557-1563.
- Hartman, H.T.; Kester, D. E.; Davies Jr.; F. T.; Geneve, R. L. (2011) *Plant Propagation – Principles and practices*. 8 ed., New Jersey: Prentice Hall, 915p.
- Hazarika, B.N. (2003) Acclimatization of tissue-cultured plants. *Current Science*, 85(12):1704-1712.
- Hoffmann, A. (1999) *Enraizamento e aclimatização de mudas micropropagadas dos porta-enxertos de macieira “marubakaido” e “M-26”*. 240p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Lavras/MG, Universidade Federal de Lavras. 240p.
- Husen, A.; Pal, M. (2007) Metabolic changes during adventitious root primordium development in *Tectona grandis* Linn. f. (teak) cuttings as affected by age of donor plants and auxin (IBA and NAA) treatment. *New Forests*, 33:309-323.
- Ibaraki, Y.; Nozaki, Y. (2005) Estimation of light intensity distribution in a culture vessel. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 80:111-113.
- Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2011) *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil*. Rio de Janeiro. V. 2, n.1. 80p.
- Inforzato, R.; Giacomelli, E. J.; Rochelle, L. A. (1968) Sistema radicular do abacaxizeiro, aos 4, 8 e 12 meses, plantado no início da estação seca, em solo latosol vermelho escuro-orto. *Bragantia*, 27(11): 135-141.
- Jesus, S. V.; Marenco, R. A. (2008) O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. *Acta Amazonica*, 38(4): 815-818.
- Kanechi, M.; Ochi, M.; Abe, M.; Inagaki, N.; Maekawa, S. (1998) The Effects of Carbon Dioxide Enrichment, Natural Ventilation, and Light Intensity on Growth, Photosynthesis, and Transpiration of Cauliflower Plantlets Cultured *in vitro*

- Photoautotrophically and Photomixotrophically. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123(2): 176-181.
- Kerbauy, G. B. (Coord.) (2004) *Fisiologia Vegetal*. São Paulo: Guanabara Koogan, 452p.
- Khan, S.V.; Kozai, T.; Nguyen, O. T.; Kubota, C.; Dhawan, V. (2002) Growth and net photosynthetic rates of *Eucalyptus tereticornis* smith under photomixotrophic and various photoautotrophic micropropagation conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 71(2):141-146.
- Khan, S.V.; Kozai, T.; Nguyen, O. T.; Kubota, C.; Dhawan, V. (2003) Growth and relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. *Biologia Plantarum*, 46(2):161-166.
- Kitaya, Y. (1995) Effects of light intensity and lighting direction on the photoautotrophic growth and morphology of potato plantlets *in vitro*. *Scientia Horticulturae*, 62:15-24.
- Kodym, A.; Zapata-Arias, F.J. (1999) Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata*) cv. 'Grande Naine'. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 55(2):141-145.
- Kozai, T.; Kubota, C.; Jeong, B.R. (1997) Environmental control for the largescale production of plants through *in vitro* technique. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 51(1):49-56.
- La Viña, G.; Pliego-Alfaro, F.; Driscoll, S. P.; Mitchel, V. J.; Parry, M. A.; Lawlor, D. W. (1999) Effects of CO<sub>2</sub> and sugars on photosynthesis and composition of avocado leaves grown *in vitro*. *Plant Physiology Biochemistry*, 37(7/8):587-595.
- Lee, D. W.; Oberbauer, S. F.; Johnson, P.; Krishnapilay, B.; Mansor, M.; Mohamad, H.; Yap, S. K. (2000) Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. *American Journal of Botany*, 87(4):447-455.
- Lee, N.; Wetstein, H.Y.; Sommer, H.E. (1988) Quantum flux density effects on the anatomy and surface morphology of *in vitro* – and *in vivo* – developed

- sweetgum leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 113(1):167-171.
- Lee, N.; Wetstein, Y.; Sommer, H.E. (1985) Effects of quantum flux density on photosynthesis and chloroplast ultrastructure in tissue-cultured plantlets and seedlings of *liquidambar styraciflua* L. toward improved acclimatization and field survival. *Plant Physiology*, 78(3):637-641.
- Leite, G.B. (1995) *Efeito de regulador de crescimento, substratos, sacarose e intensidade luminosa na micropopagação da pereira (Pyrus communis L.) cv. Bartlett e do clone oh x f97*. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Pelotas/RS - Universidade Federal de Pelotas. 50p.
- Leyser, O. (2010) The Power of Auxin in Plants. *Plant Physiology*, 154:501-505.
- Lima, V.; P.; Reinhardt, D.; H.; Costa, J. B. (2002) Debaste de mudas tipo filhote do abacaxi cv. Pérola-2. Análises de crescimento e de correlações. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24(1):101-107.
- Long, S.P., Humphries, S., Falkowski, P.G. (1994). Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45:633-662.
- Ludwig-Muller, J. (2000) Indole-3-butyric acid in plant growth and development. *Plant Growth Regulation*, 32:219-230.
- Maciel, S. C.; Voltoline, J. A.; Pedrotti, E. L. (2002) Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira Marubakaido micropropagado. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24(2): 289-292.
- Magalhães, A. C. N. (1979) Análise quantitativa do crescimento. IN: Ferri, M. G. (Coord.). *Fisiologia Vegetal*. São Paulo: EPU, v.1, 362p.
- Marin, J.A.; Gella, R. (1988) Is desiccation the cause of the poor survival rate in the acclimatization of micropropagated *Prunus cerasus* L. *Acta Horticulturae*, 230:105-112.

- Maroco, J. P.; Pereira, J. S.; Chaves, M. M. (1997) Stomatal responses to leaf-to-vapour pressure deficit in sahelian species. *Australian Journal of Plant Physiology*, 24(3): 381-387.
- Martins, A. N.; Suguino, E.; Dias, N. M. S.; Perdoná, M. J. (2011). Adição de torta de mamona em substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de bananeira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(1):198-207.
- Miyashita, Y.; Kitaya, Y.; Kubota, C.; Kozai, T. (1996) Photoautotrophic growth of potato plantlets as affected by explant leaf area, fresh weight and stem length. *Scientia Horticulturae*, 65:199-202.
- Moreira, M. A. (2001) *Produção e aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro Ananas comosus L. Merrill cv. Pérola*. Tese (Doutorado em Agronomia) – Lavras/MG, Universidade Federal de Lavras - UFLA. 81p.
- Moreira, M. A.; Carvalho, J. G.; Pasqual, M.; Fráguas, C. B.; Silva, A. B. (2006). Efeito de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola. *Ciência e Agrotecnologia*, 30(5):875-879.
- Murashige, T.; Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3):473-497.
- Nguyen, Q. T.; Kozai, T., Heo, J.; Thai, D.X. (2001) Photoautotrophic growth response of *in vitro* cultured coffee plantlets to ventilation methods and photosynthetic photon fluxes under carbon dioxide enriched condition. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 66:217-225.
- Nguyen, Q. T.; Kozai, T.; Nguyen, U. V. (1999) Effects of sucrose concentration, supporting material and number of air exchanges of the vessel on the growth of *in vitro* coffee plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 58(1):51-57
- Niu, G.; Kozai, T.; Kubota, C.A. (1998) System for measuring the *in situ* CO<sub>2</sub> exchange rates of *in vitro* plantlets. *Hortscience*, 33(6):1076-1078.
- Nobel, P. S. (1991) *Physicochemical and environmental plant physiology*. San Diego: Academic Press, 635p.



- Oliveira, A. M. G.; Cabral, J. R. S.; Souza, L. F. S.; Reinhardt, D. H. (2004) Época de plantio e indução floral do abacaxizeiro 'Pérola', em assentamentos do extremo sul da Bahia. Brasília: EMBRAPA, *Boletim Técnico*, 25. 2p.
- Oltramari, A. C.; Dal Vesco, L. L.; Pedrotti, E. L.; Ducroquet, J.-P. H. J.; Nodari, R. O.; Gerra, M. P. (2000) Protocolo de micropropagação da goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). *Ciência Rural*, 30(1):61-68.
- Ori, S. S. (2006) *Influência das auxinas no desenvolvimento e no teor de carboidratos solúveis, amido e proteína total solúvel em Phalaenopsis amabilis (Lineu) Blume (Orchidaceae) cultivada in vitro*. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) – São Paulo/SP, Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. 133p.
- Pasqual, M.; Moreira, M. A.; Sobrinho, A. A. (1998) Biotecnologia aplicada à produção de mudas de abacaxi. *Informe Agropecuário*, 19(195):20-23.
- Pasqual, M.; Santos, F. C.; Figueiredo, M. A.; Junqueira, K. P.; Resende, J. C.; Ferreira, E. A. (2008). Micropropagação do abacaxizeiro ornamental. *Horticultura Brasileira*, 26(1):45-49.
- Pearce, R.B., Carlson, G.E., Barnes, D.K., Hart, R.H., Hanson, C.H. (1969). Specific leaf weight and photosynthesis in alfalfa. *Crop Science* 9: 423–426.
- Poethig, R. S. (2010) The Past, Present, and Future of Vegetative Phase Change. *Plant Physiology*, 154:541-544.
- Pompelli, M. F.; Guerra, M. P. (2006) Enraizamento *in vitro* e *ex vitro* de *Dyckia distachya* Hassler, sob diferentes concentrações de AIB. *Floresta e Ambiente*, 12(2): 42-49.
- Poorter H, Van der Werf A (1998). Is inherent variation in RGR determined by LAR at low irradiance and by NAR at high irradiance? A review of herbaceous species. In: *Inherent variation in plant growth, Physiological mechanisms and Ecological Consequences*. Lambers H, Poorter H, van Vuuren M (eds). Backhuys, Leiden, p. 309–336

- Pospisilová, J.; Tichá, I.; Kadlec, P.; Haiseld, D.; Plzakova, S. (1999). Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. *Biologia Plantarum* 42(4):481-497.
- Praxedes, S. C.; Silva Jr., A. F.; Figueiredo, F. L. B.; Figueiredo, M. L.; Câmara, F. A. A.; Oliveira, O. F. (2001) Estiolamento *in vitro* do abacaxizeiro Pérola em presença de ANA e AIA. *Caatinga*, 14(1/2):13-15.
- Preece, J.E.; Sutter, E.G. (1991) Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: Debergh, P.C.; Zimmerman, R.H. (ed.). *Micropropagation*. Dordrecht: Kluwer Academic, p.71-93.
- Py, C.; Lacoueilhe, J. J.; Teisson, C. (1984) *L'ananas: as culture e sés produits*. Paris: Maisonneuve e Larose, 562p.
- Radmann, E. B.; Braga, E. J. B.; Karan, M. A. L.; Posada, M. A. C.; Peters, J. A. (2001). Influência da densidade de fluxo liminoso na qualidade de plantas micropropagadas de *Gypsophila paniculata* L.. *Revista Brasileira de Agrociência*, 7(3):171-175.
- Radochová, B.; Tichá, I. (2009) Leaf anatomy during leaf development of photoautotrophically *in vitro*-grown tobacco plants as affected by growth irradiance. *Biologia Plantarum* 53(1):21-27.
- Reinhardt, D. H. R. C.; Souza, L. F. S.; Cabral, J. R. S. (2000) *Abacaxi. Produção: aspectos técnicos*. EMBRAPA Mandioca e Fruticultura. Brasília: CTT. 77p.
- Ribeiro, D. G.; Vasconcellos, M. A. S.; Araújo, A. P. (2011) Contribuição do sistema radicular de mudas micropropagadas na absorção de nitrogênio de abacaxizeiro cultivar Vitória. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(4):1240-1250.
- Sciutti, R; Morini, S. (1995) Water loss and photosynthesis of plum is influenced by relative humidity during rooting *in vitro*. *Journal of Horticultural Science*, 70(2):221-228.
- Seko, Y.; Nishimura, M. (1996) Effects of CO<sub>2</sub> and light on survival and growth *in vitro* on sugar-free medium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 46:257-264.

- Serret, M.D. Trillas, M. I.; Matas, J.; Araus, J. L. (1996) Development of photoautotrophy and photoinhibition of *Gardenia jasminoides* plantlets during micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 45(1):1-16.
- Serret, M.D. Trillas, M. I.; Matas, J.; Araus, J. L. (1997) et al. The effect of different closure types, light and sucrose concentrations on Carbon isotope composition and growth of *Gardenia jasminoides* plantlets during micropropagation and subsequent acclimation *ex vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 47(3):217-230.
- Shackel, K. A.; Novello, V.; Sutter, E. G. (1990) Stomatal Function and Cuticular Conductance in Whole Tissue-cultured Apple Shoots. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115(3):468-472.
- Silva, A. B. (2006) *Biorreator e luz natural na micropropagação do abacaxizeiro*. Tese (Doutorado em Agronomia) – Lavras/MG, Universidade Federal de Lavras. 132p.
- Silva, A. B.; Pasqual, M.; Castro, E. M.; Miyata, L. Y.; Melo, L. A.; Braga, F. T. (2008) Luz natural na micropropagação do abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merr). *Interciencia*, 33(11):839-843.
- Skoog, F.; Miller, C. O. (1957) Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symposium of Society for Experimental Biology.*, 11:118-131.
- Souza, A. V.; Pereira, A. M. S. (2007) Enraizamento de plantas cultivadas *in vitro*. *Revista Brasileira Plantas Mediciniais*, 9(4):103-117.
- Taiz, L.; Zeiger, E. (2010). Tradução: Santarém, E. R.; Astarita, L. V.; Dillenburger, L. R.; Rosa, L. M. G.; Oliveira, P. L. *Fisiologia Vegetal*. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 848p.
- Tamaki, V.; Mercier, H.; Nievola, C. C. (2007) Cultivo *in vitro* de clones de *Ananas comosus* (L.) Merrill cultivar 'Smooth Cayenne' em diferentes concentrações de macronutrientes. *Hoehnea*, 34(1):69-73.

- Tanaka, K.; Nakamura, Y.; Asami, T.; Yoshida, S.; Matsuo, T.; Okamoto, S. (2003). Physiological roles of brassinosteroids in early growth of *Arabidopsis*: brassinosteroids have a synergistic relationship with gibberellins as well as auxin in light-grown hypocotyls elongation. *Journal Plant Growth Regulation*, 22:259-271.
- Teixeira, J. B.; Cruz, A. R. R.; Ferreira, F. R.; Cabral, J. R. S. (2001) Biotecnologia aplicada á produção de mudas. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, 3(19):42-47.
- Ting, I. P. (1985) Crassulacean Acid Metabolism. *Annual Review Plant Physiology*, 36:595-622.
- Tofanelli, M. B. D. (1999) *Enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares de pessegueiro em diferentes doses de ácido indolbutírico*. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Lavras/MG, Universidade Federal de Lavras. 87p.
- Torres Netto, A. (2005) *Atributos fisiológicos e relações hídricas em genótipos de mamoeiro (Carica papaya L.) na fase juvenil*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes/RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF. 116p.
- Torres Netto, A., Campostrini, E., Oliveira, J.G., Yamanishi, O.K. (2002) Portable chlorophyll meter for the quantification of photosynthetic pigments, nitrogen and the possible use for assessment of the photochemical process in *Carica papaya* L.. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 14(3):203-210.
- Torres, A.C.; Caldas, L.S. (1990) *Técnicas e aplicações de cultura de tecidos em plantas*. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH. 1990. 433p.
- Toyoda, P. R.; Torres-Netto, A; Silva, J. R.; Athayde, M. O.; Carvalho, V. S.; Leal, N. R. (2010) *Análise biométrica e ecofisiológica da aclimatização de mudas de abacaxizeiro cultivar 'Gold' oriundos de micropropagação*. In: XXI Congresso Brasileiro de Fruticultura. Anais do XXI Congresso Brasileiro de Fruticultura. Natal-RN.

- Turner, N. C. (1981). Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant Soil*, 58:339-366.
- Vallikhan, P. S.S.; Kozai, T.; Nguyen, Q. T.; Kubota, C.; Dhawan, V. (2003) Growth and water relations of *Paulownia fortune* under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. *Biologia Plantarum*, 46(2):161-166.
- Vaz, A.P.A.; Kerbauy, G.B.; Ribeiro, R.C.L.F. (1998) Changes in soluble carbohydrates and starch partitioning during vegetative bud formation from root tips of *catasetum fimbriatum* (orchidaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 54:105-111.
- Ventura, J. A. (1994) *Fusariose do abacaxizeiro: caracterização do patógeno, epidemiologia da doença, resistência e micropropagação do hospedeiro in vitro*. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Viçosa/MG, Universidade Federal de Viçosa. 111p.
- Ventura, J. A.; Cabral, J. R. S.; Matos, A. P.; Costa, H. (2006) *'Vitória' nova cultivar de abacaxi resistente à fusariose*. Vitória: Incaper/ES, (Documento,148).
- Vilar, R.; Maranon, T.; Quero, J. L.; Panadero, P.; Arenas, F.; Lambers, H. (2005) Variation in relative growth rate of 20 *Aegilops* species (Poaceae) in the field: the importance of net assimilation rate or specific leaf area depends on the time scale. *Plant and Soil*, 272:11-27.
- Weber, O.; B.; Correia, D.; Rocha, M. V.; Alvez, G.; C.; Oliveira, E. M.; Sá, E. G. (2003) Resposta de plantas micropropagadas de abacaxizeiro à inoculação de bactérias diazotróficas em casa de vegetação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(12): 1419-1426.
- Wodecki, M. J.; Holcomb, J. (1989) Varying concentration of IBA affects rooting of chrysanthemum cuttings cv. Bright Golden. *Horticultural Abstracts*, 59:11.
- Xu, J.; Wang, Y.; Zhang, Y.; Chai, T. (2008) Rapid *in vitro* multiplication and *ex vitro* rooting of *Malus zumi* (Matsumura) Rehd. *Acta Physiology Plant*, 30:129-132.

- Ziv, M, (1995) *In vitro* acclimatization. In : Aitken-Christie ; J. Kozao, T. ; Smith, M. L. A. (eds). *Automation and environmental control in plant tissue culture*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, p.439-516.
- Zobayed, S.M.A.; Afreen, F.; Kubota, C.; Kozai, T. (2000) Water control and survival of *Ipomoea batatas* grown photoautotrophically under forced ventilation and photomixotrophically under natural ventilation. *Annals of Botany*, 86(3):603-610.
- Zobayed, S.M.A.; Armstrong, J.; Armstrong W. (1999) Cauliflower shoot-culture: effects of different types of ventilation on growth and physiology. *Plant Science*, 141:209-217.

## APÊNDICES

Valores das médias com a comparação pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 3. Comparação entre as médias de Massa Fresca da Raiz para os tratamentos: dias após transplântio e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplântio (dias)	Massa Fresca da Raiz	
40'	175dias	0.837794	a
0'	175dias	0.812969	a
60'	175dias	0.790325	a
20'	175dias	0.788369	a
60'	135dias	0.725819	a
20'	135dias	0.717488	a
0'	135dias	0.706113	a
40'	135dias	0.689613	a
60'	90dias	0.325819	b
40'	90dias	0.258319	b
20'	90dias	0.192304	b
0'	90dias	0.189594	b
40'	45dias	0.178200	b
0'	45dias	0.167306	b
20'	45dias	0.156844	b
60'	45dias	0.146600	b

Obs: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 4. Comparação entre as médias de Massa Fresca da Parte Aérea para os tratamentos: dias após transplântio e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplântio (dias)	Massa Fresca da Parte Aérea	
40'	175dias	6.625263	a
60'	175dias	6.037744	ab
20'	175dias	5.945994	b
0'	175dias	5.908319	b
60'	135dias	4.847156	c
40'	135dias	4.639094	c
20'	135dias	4.350225	c
0'	135dias	4.326750	c
20'	90dias	2.277744	d
40'	90dias	2.269769	d
60'	90dias	2.033206	d
0'	90dias	1.721744	d
40'	45dias	0.896356	e
0'	45dias	0.815050	e
20'	45dias	0.774175	e
60'	45dias	0.751825	e

Obs: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .



Tabela 5. Comparação entre as médias de Área Foliar ( $m^2$ ) para os tratamentos: dias após transplântio e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplântio (dias)	Média Área Foliar ( $m^2$ )	
0'	90	0.009684	a
40'	175	0.008308	ab
0'	175	0.008143	ab
60'	175	0.007862	abc
40'	135	0.007650	abc
60'	135	0.007607	abc
20'	175	0.007563	abc
20'	135	0.007173	abcd
0'	135	0.007039	abcde
40'	90	0.006679	abcde
20'	90	0.006119	abcde
60'	90	0.005834	abcde
40'	45	0.003588	bcde
60'	45	0.003228	cde
0'	45	0.002633	de
20'	45	0.002138	e

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 6. Comparação entre as médias de Massa Seca Parte Aérea (g) para os tratamentos: dias após transplante e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplante (dias)	Média Massa Seca da Parte Aérea (g)	
40'	175	0.622381	a
0'	175	0.563181	ab
60'	175	0.532863	b
20'	175	0.530475	b
20'	135	0.371825	c
60'	135	0.364250	c
40'	135	0.354681	c
0'	135	0.314625	c
0'	90	0.192569	d
20'	90	0.190181	d
40'	90	0.173000	d
60'	90	0.155731	d
40'	45	0.055326	e
60'	45	0.051863	e
20'	45	0.048425	e
0'	45	0.046506	e

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 7. Comparação entre as médias de Massa Seca Raiz (g) para os tratamentos: dias após transplântio e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplântio (dias)	Média Massa seca Raiz (g)	
40'	175	0.163338	a
60'	175	0.155238	ab
0'	175	0.149338	abc
20'	175	0.143269	abc
20'	90	0.133994	abc
60'	135	0.125719	abc
20'	135	0.115869	abc
40'	135	0.110144	bc
0'	135	0.106313	c
60'	45	0.037981	d
40'	45	0.037925	d
20'	45	0.036550	d
40'	90	0.034875	d
0'	90	0.031900	d
60'	90	0.031000	d
0'	45	0.017231	d

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 8. Comparação entre as médias de Número de Folhas para os tratamentos: dias após transplântio e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplântio (dias)	Média Número de Folhas	
20'	175dias	12.50000	a
40'	175dias	12.37500	a
60'	175dias	12.31250	a
0'	175dias	12.12500	a
60'	135dias	12.06250	a
20'	135dias	11.81250	a
40'	135dias	11.81250	a
0'	135dias	11.56250	a
0'	90dias	9.12500	b
40'	90dias	8.68750	b
20'	90dias	8.68750	b
60'	90dias	8.25000	bc
40'	45dias	7.12500	cd
0'	45dias	6.81250	d
60'	45dias	6.37500	d
20'	45dias	6.12500	d

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 9. Comparação entre as médias de Altura da Planta (m) para os tratamentos: dias após transplântio e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplântio (dias)	Média Altura da Planta (m)	
40'	175dias	0.043750	a
0'	175dias	0.042500	a
60'	135dias	0.041250	ab
60'	175dias	0.040625	abc
60'	90dias	0.040313	abc
20'	175dias	0.040000	abc
0'	90dias	0.040000	abc
40'	135dias	0.039063	abc
20'	135dias	0.037813	abc
40'	90dias	0.036875	abc
20'	90dias	0.036563	abc
0'	135dias	0.036563	abc
40'	45dias	0.036250	abc
20'	45dias	0.033125	bc
60'	45dias	0.032188	bc
0'	45dias	0.031875	c

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 10. Comparação entre as médias de Diâmetro da Roseta (m) para os tratamentos: dias após transplântio e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplântio (dias)	Média Diâmetro da Roseta (m)	
40'	175dias	0.150313	a
0'	175dias	0.141563	ab
60'	175dias	0.134375	abc
20'	175dias	0.130000	abc
60'	135dias	0.127188	abc
40'	135dias	0.124375	bc
0'	135dias	0.118438	bcd
20'	135dias	0.116563	cd
40'	90dias	0.098750	de
60'	90dias	0.091563	ef
0'	90dias	0.088125	ef
20'	90dias	0.086250	fg
40'	45dias	0.067500	fgh
60'	45dias	0.062813	gh
20'	45dias	0.061563	h
0'	45dias	0.058750	h

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 11. Comparação entre as médias de Massa Foliar Específica ( $\text{g m}^{-2}$ ) para os tratamentos: dias após transplântio e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplântio (dias)	Média Massa Foliar Específica ( $\text{g m}^{-2}$ )	
60'	175	87.56668	a
40'	175	83.80868	a
0'	175	83.61388	a
20'	175	79.52318	a
0'	135	60.55206	b
60'	135	59.67794	bc
40'	135	55.39034	bc
20'	135	51.01210	c
20'	90	37.14865	d
0'	90	34.84784	de
60'	90	32.39372	def
40'	90	31.34597	def
40'	45	30.75453	def
60'	45	30.70142	def
20'	45	28.09514	ef
0'	45	24.76546	f

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 12. Comparação entre as médias de Condutância Estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para os tratamentos: dias após transplante e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplante (dias)	Média Condutância Estomática ( $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	
60'	45	0.530113	a
20'	45	0.475713	ab
0'	45	0.441350	ab
40'	45	0.410775	b
20'	135	0.199594	c
40'	135	0.170019	cd
60'	135	0.161181	cd
0'	135	0.143181	cd
0'	175	0.130794	cd
60'	175	0.130419	cd
20'	175	0.124431	cd
40'	175	0.120563	cd
20'	90	0.100138	cd
60'	90	0.095675	cd
0'	90	0.088319	d
40'	90	0.082056	d

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .



Tabela 13. Comparação entre as médias de  $F_v/F_m$  para os tratamentos: dias após transplante e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplante (dias)	Média $F_v/F_m$	
60'	135	0.805875	a
40'	175	0.805563	a
20'	90	0.804875	a
0'	135	0.804813	a
20'	175	0.804438	a
40'	90	0.804438	a
20'	135	0.802125	a
40'	135	0.802063	a
60'	90	0.800375	a
60'	175	0.799063	a
0'	90	0.798688	a
0'	175	0.797356	a
20'	45	0.777938	b
60'	45	0.773938	b
40'	45	0.771938	b
0'	45	0.769438	b

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 14. Comparação entre as médias da Taxa fotossintética líquida ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para os tratamentos: dias após transplante e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplante (dias)	Média Tx. Fotossintética Líquida ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	
0'	175dias	2.17907	a
40'	45dias	2.03571	a
20'	175dias	1.73653	a
20'	45dias	1.63236	ab
40'	175dias	1.59828	ab
40'	90dias	1.40814	ab
60'	45dias	1.32556	abcd
60'	175dias	1.25289	abcd
60'	135dias	0.94847	abcd
60'	90dias	0.72226	abcd
0'	90dias	0.45295	abcd
20'	135dias	-0.05039	abcd
0'	45dias	-0.48277	abcd
20'	90dias	-1.56829	bcd
0'	135dias	-1.95069	cd
40'	135dias	-2.29324	d

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 15. Comparação entre as médias de Transpiração ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) para os tratamentos: dias após transplântio e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplântio (dias)	Média Transpiração ( $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	
20'	135	5.125000	a
60'	135	4.312500	ab
0'	135	3.875000	bc
40'	135	3.812500	bcd
0'	175	3.381250	bcde
20'	175	3.375000	bcde
20'	90	3.368750	bcde
60'	175	3.350000	cde
60'	45	3.246875	cde
20'	45	3.093125	cde
40'	175	3.056250	cde
0'	45	2.964375	cde
0'	90	2.906250	de
60'	90	2.850625	e
40'	90	2.631250	e
40'	45	2.511875	e

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 16. Comparação entre as médias de Intensidade de Verde para os tratamentos: dias após transplante e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplante (dias)	Média Intensidade de Verde	
0'	90	43.70000	a
40'	90	39.98750	ab
60'	90	39.97500	ab
20'	90	39.91875	ab
0'	135	39.18750	ab
60'	135	38.00000	abc
40'	135	37.82500	bcd
20'	135	37.53750	bcd
20'	175	34.26250	bcde
60'	175	32.44375	cde
40'	175	32.00000	de
0'	175	31.02500	e
40'	45	21.36875	f
20'	45	20.66250	f
0'	45	20.48125	f
60'	45	18.56875	f

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 17. Comparação entre as médias de Conteúdo Relativo de Água (%) para os tratamentos: dias após transplântio e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplântio (dias)	Média Conteúdo Relativo de Água (%)	
0'	135	96.53081	a
20'	135	94.00672	ab
20'	90	92.63841	ab
0'	175	92.33616	ab
0'	90	90.02581	ab
20'	175	89.75537	ab
40'	175	89.30093	bc
40'	135	88.93112	bc
60'	175	88.49427	bcd
60'	90	88.41593	bcd
40'	90	88.01514	bcde
60'	135	82.56251	cdef
20'	45	82.55633	cdef
60'	45	81.66939	def
40'	45	81.21281	ef
0'	45	79.43970	f

OBS: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .

Tabela 18. Comparação entre as médias de DPV<sub>folha-ar</sub> (Kpa) para os tratamentos: dias após transplântio e tempo de imersão na solução de AIB.

Tempo de Imersão (min)	Dias após transplântio (dias)	DPV <sub>folha-ar</sub> (Kpa)	
20'	135dias	37.19288	a
0'	135dias	36.45881	a
40'	135dias	29.45669	ab
60'	135dias	22.36206	abc
60'	175dias	21.19525	abc
40'	175dias	11.87100	bc
20'	45dias	6.80813	bc
0'	45dias	6.49481	bc
60'	45dias	6.31656	bc
40'	45dias	6.28881	bc
60'	90dias	5.26631	c
20'	90dias	4.23000	c
0'	90dias	4.21538	c
40'	90dias	4.16713	c
20'	175dias	2.83525	c
0'	175dias	2.73275	c

Obs: médias na coluna seguidas de mesma letra não são diferentes estatisticamente pelo teste de Tukey  $p < 0,05$ .