

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO**

**AVALIAÇÃO CLONAL, ESTRATÉGIAS DE PROPAGAÇÃO E  
LIMPEZA VIRAL DE ABACAXIZEIRO ORNAMENTAL COM  
FLORESCIMENTO RECORRENTE**

**BRUNA DE FATIMA BATISTA DA SILVA**

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA  
2017**

**AVALIAÇÃO CLONAL, ESTRATÉGIAS DE PROPAGAÇÃO E  
LIMPEZA VIRAL DE ABACAXIZEIRO ORNAMENTAL COM  
FLORESCIMENTO RECORRENTE**

**BRUNA DE FATIMA BATISTA DA SILVA**

Bacharela em Agronomia

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, 2014

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

**Orientadora:** Dra. Fernanda Vidigal Duarte de Souza

**Coorientador:** Dr. Everton Hilo de Souza

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA  
2017**

#### FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Bruna de Fatima Batista da

Avaliação clonal, estratégias de propagação e limpeza viral de abacaxizeiro ornamental com florescimento recorrente. – Cruz das Almas, BA, 2017.

91 f. il.; 30 cm.

Orientador: Dra. Fernanda Vidigal Duarte de Souza.

Coorientador: Prof. Dr. Everton Hilo de Souza.

Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais)-  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2017.

1. Abacaxi. 2. Hibridação. I. Souza, Fernanda Vidigal Duarte de. II. Souza, Everton Hilo de. III. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
IV. Título.

CDD: 634.774

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS  
CURSO DE MESTRADO**

**AVALIAÇÃO CLONAL, ESTRATÉGIAS DE PROPAGAÇÃO E  
LIMPEZA VIRAL DE ABACAXIZEIRO ORNAMENTAL COM  
FLORESCIMENTO RECORRENTE**

**Comissão Organizadora da Defesa de Dissertação**

Bruna de Fatima Batista da Silva

Aprovada em 12 de junho de 2017

Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
(Orientadora)

Dr. Domingo Haroldo Rudolfo Conrado Reinhardt  
Embrapa Mandioca e Fruticultura  
(Examinador Externo)

Dra. Maria Angélica Pereira Carvalho Costa  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
(Examinador Interno)

## **DEDICATÓRIA**

Ao Verdadeiro Deus, Criador do Universo e de tudo o que nele existe, a minha mãe Maria Rosinete Alves Batista, ao meu pai José Pires Abadia da Silva, aos meus irmãos Billy Jonny Batista da Silva e Fabíola de Cássia Batista, a minha cunhada Kléssya Regeane Cunha Mota Silva. Sem vocês a realização deste sonho não seria possível.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao verdadeiro Deus, pelo dom da vida e por preciosos momentos de meditação e oração a partir da sua santa palavra. A Ti toda Honra, Glória e Louvor, te servirei por toda a minha vida;

Agradeço a minha mãe, Maria Rosinete Alves Batista, ao meu pai, José Pires Abadia da Silva, aos meus irmãos, Billy Jonny e Fabíola de Cássia e a minha cunhada Kléssya Regeane, pelo incentivo, apoio e paciência;

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e a Embrapa Mandioca e Fruticultura pelo Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Edital CAPES-EMBRAPA 15/2014 e PROCAD 2013), pela concessão da bolsa de estudo e auxílio financeiro;

Aos meus orientadores, Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza e Dr. Everton Hilo de Souza, pela experiência acadêmica adquirida durante o mestrado e pela conclusão da pesquisa;

Aos docentes e servidores da UFRB e Embrapa, especialmente ao Dr. Carlos Ledo e ao Msc. Antônio Leandro da Silva pelo conhecimento teórico nas disciplinas de estatística experimental e biometria, a Dra. Lidyanne Aona, pelo estágio de docência e a Tânia Maria, Helder Carvalho, Wagner Santos e Benedito Conceição (Seu Cata), pela formação prática no laboratório de cultura de tecidos vegetais e no campo experimental;

Aos meus amigos e colegas de mestrado e laboratório pela amizade e apoio nas horas de estudo e trabalho, em especial a Gabriella Navarro, Patrícia Guerra, Manasses Silva, Lucas Ezequiel, Rafaelle Oliveira, Daniele Max, Fabiana Aud, Taliane Soares e Ronilze Leite;

Aos meus amigos e irmãos da Igreja Adventista do Sétimo Dia que me receberam de braços abertos, sobretudo ao Pr. Moisés Sales e sua esposa Tatiana Barbosa, a Tânia Maria e ao Bruno Santos, ao Pedro Machado e seus avós Seu Ari e D. Glória, a Sheila Assunção, Pamela e Paloma Conceição, a Caeline Castor, Emerson de Lima e ao José Henrique Lemos.

A todos aqueles que participaram direta e indiretamente para que a pesquisa fosse realizada e o meu sonho concretizado, muitíssimo obrigada!

## AVALIAÇÃO CLONAL, ESTRATÉGIAS DE PROPAGAÇÃO E LIMPEZA VIRAL DE ABACAXIZEIRO ORNAMENTAL COM FLORESCIMENTO RECORRENTE

**RESUMO:** O híbrido de abacaxi ornamental ORN-MUT apresenta um florescimento recorrente na coroa do fruto formado da planta mãe e pode ser um produto inovador para a floricultura. O presente trabalho teve como objetivos realizar a avaliação clonal e comparar diferentes métodos de propagação deste híbrido, assim como obter matrizes livres de vírus. Realizou-se a caracterização morfológica a partir de descritores quantitativos e qualitativos. Avaliou-se número de mudas e o período de tempo para a sua formação na propagação convencional, por seccionamento do talo, micropropagação convencional e micropropagação por estiolamento. Foi realizado o cultivo *in vitro* de ápices caulinares para avaliar a remoção do complexo viral (PMWaV) em plantas infectadas e indexadas por RT-PCR. O ORN-MUT mostrou-se distinto dos parentais e apresentou uniformidade de florescimento apenas nos frutos formados antes do florescimento recorrente. As plantas após o florescimento recorrente apresentaram uma desuniformidade no desenvolvimento do sincarpo, com ausência de frutinhos em alguns clones e variação no tempo de florescimento. O híbrido pode ser utilizado como planta de vaso e para paisagismo. Na propagação convencional, o genótipo produziu, em média, 17 mudas/planta em um período de 566 dias ( $\cong$ 19 meses). A propagação por seccionamento produziu, em média, 2,3 mudas/talo e 47 mudas totais, em 591 dias ( $\cong$ 20 meses). A micropropagação convencional proporcionou 1.284 plantas após quatro subcultivos, obtendo-se mudas em condições de plantio no campo após 778 dias ( $\cong$ 26 meses). As hastes estioladas por 60 dias tiveram seu pico de produção (1.224 plantas) no 2º subcultivo e necessitaram de 883 dias ( $\cong$ 29 meses) para se obter plantas com tamanho adequado para cultivo. As hastes estioladas com 120 dias produziram 935 plantas ao final dos quatro subcultivos, com o pico de produção no 3º subcultivo, ficando aptas ao cultivo após 943 dias ( $\cong$ 31 meses). Em relação ao cultivo de ápices caulinares, a técnica demonstrou ser eficiente para promover a limpeza do complexo viral PMWaV do abacaxizeiro.

**Palavras-chave:** *Ananas comosus* (L.) Merrill; caracterização morfológica; produção de mudas; PMWaV

## CLONAL EVALUATION, PROPAGATION STRATEGIES AND VIRAL CLEANING OF ORNAMENTAL PINEAPPLE WITH RECURRENT FLOWERING

**ABSTRACT:** The ornamental pineapple hybrid ORN-MUT presents a recurrent flowering in the crown of the fruit formed from the mother plant and can be a novelty for floriculture. This work aimed to perform the clonal evaluation and to compare different methods of propagation of this hybrid, as well as to obtain free virus plants. Morphological characterization was performed from quantitative and qualitative descriptors. The number of plants and the necessary time (days) for the conventional propagation, sectioning of stem, conventional micropropagation and micropropagation by etiolated plants were evaluated. Cultivation of apical meristems *in vitro* was performed to evaluate the removal of the viral complex (PMWaV) in infected plants. The ORN-MUT showed to be distinct from the parental and presented uniformity of flowering only in the fruits formed before the recurrent flowering. The plants after recurrent flowering showed a lack of uniformity in relation to the development of the syncarpo, with absence of fruit in some clones and variation in flowering time. ORN-MUT can be used as potted plant and for landscaping. In conventional propagation, an average of 17 seedlings per plant over a period of 566 days ( $\cong$ 19 months) were obtained. The propagation by plant sectioning produced on average of 2.3 seedlings/sectioned stem and 47 total seedlings in a period of 591 days ( $\cong$ 20 months). The conventional of micropropagation provided 1,284 plants after four subcultures, with the plants suitable for the field after 778 days ( $\cong$ 26 months). The micropropagation from etiolated stems for 60 days had their peak of production in the second subculture with the obtaining of 1,224 plants. This method required 883 days ( $\cong$ 29 months) to obtain plants to the field. The plants etiolated for 120 days resulted in 935 plants at the end of the four subcultures, with the peak of production in the third subculture, with the seedlings suitable for the field after 943 days ( $\cong$ 31 months). The cultivation of shoot apical meristems is an efficient strategy to remove the infected tissue with the viral complex PMWaV and to provide healthy matrices.

**Key words:** *Ananas comosus* (L.) Merrill; morphological characterization; seedling production; PMWaV



## SUMÁRIO

Página

RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO .....	1

CAPITULO 1	
AVALIAÇÃO CLONAL E DO FLORESCIMENTO RECORRENTE DE HÍBRIDO ORNAMENTAL DE ABACAXI COM POTENCIAL DE USO COMO PLANTA DE VASO .....	26

CAPÍTULO 2	
ESTRATÉGIAS DE PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E LIMPEZA VIRAL DE HÍBRIDO ORNAMENTAL DE ABACAXI .....	52

CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	81
----------------------------	----

## INTRODUÇÃO

### A floricultura

O mercado de flores e plantas ornamentais oferta múltiplos produtos e serviços. O setor é altamente competitivo e abrange uma diversidade de espécies de clima temperado, tropical e subtropical, que se adaptam a diferentes condições de solo e produzem flores e folhagem para corte, plantas de vaso, sementes, bulbos e mudas de árvores de grande porte (FRANÇA et al., 2010).

A cadeia produtiva da floricultura alcançou relativo crescimento no agronegócio nacional, garantindo emprego e renda para agricultores em todo o país. No período de 2008 a 2013, o número de produtores que se dedicaram à atividade, bem como a área cultivada e o valor bruto da produção cresceram, independente da crise mundial, permitindo uma lucratividade para o setor (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014). Em 2015, o aumento econômico da cadeia foi de 8% em relação ao ano anterior, que obteve um rendimento de 5,7 bilhões de reais em nível de consumidor, gerando 215.818 empregos diretos nas etapas de produção (36,37%), distribuição (3,9%), comércio varejista (55,87%) e setor de apoio (3,8%) (IBRAFLOR, 2015).

Atualmente, a floricultura nacional conta com 8.248 produtores, que utilizam 13.770 hectares (ha), no qual são cultivadas mais de 350 espécies com cerca de três mil variedades, voltadas para o ramo de plantas de jardins, arbustos e árvores (12.170 ha), plantas de vasos e mudas (810 ha) e flores de corte (790 ha). Tendo-se 89,32% das espécies cultivadas ao ar livre; 8,71% em estufas e 1,96% em áreas com sombrite (IBRAFLOR, 2015).

Os Estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Distrito Federal são os principais responsáveis pela cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais do país, devido às características edafoclimáticas favoráveis para o cultivo da maioria das espécies assim como infraestrutura e proximidade com os maiores mercados consumidores (NEVES; PINTO, 2015). O Estado de São Paulo absorve a maior parte do mercado atacadista (cooperativas, centrais de abastecimento públicas e privadas), abrangendo no comércio varejista uma grande rede de supermercados e *garden centers* que são tendências para a cadeia, pois fornecem diferencial no preço, comodidade, conforto e conveniência aos consumidores (SEBRAE, 2015a).

O brasileiro consome, em média, R\$ 26,27 por ano com plantas ornamentais, sendo que 41,55% desse valor é gasto com paisagismo e jardinagem, 34,33% com flores e folhagens de corte, e 24,12% com plantas envasadas. O maior consumo *per capita* se concentra no Distrito Federal com R\$ 44,23, seguido de Minas Gerais (R\$ 43,40), Rio de Janeiro (R\$ 41,53), Santa Catarina (R\$ 37,84), São Paulo (R\$ 35,52), Rio Grande do Sul (R\$ 35,34), Goiás (R\$ 32,62), Espírito Santo (R\$ 28,98), Paraná (R\$ 21,94) e Ceará (R\$ 20,99). O Estado da Bahia encontra-se na 16ª posição, consumindo R\$ 10,90 de produtos ornamentais por pessoa (SEBRAE, 2015b). A maior demanda ocorre em datas comemorativas, tais como: dia da mulher, dia das mães, dia dos namorados e finados, evidenciando a participação feminina e as redes corporativas empresariais como potenciais clientes nessas datas especiais (AKI; PEDROSA, 2002).

No cenário mundial, a participação brasileira no *ranking* das exportações (0,1%) e importações (0,2%) ainda é pequena. De acordo com o “United Nations Commodity Trade Statistics Database, o fluxo de produtos da floricultura mundial, em 2015, foi de US\$ 18,7 bilhões, sendo as exportações concentradas na Holanda (49,1%), Colômbia (7%), Alemanha (5%), Equador (4,4%) e Itália (4,1%). As importações movimentaram em torno de US\$ 17,4 bilhões, sendo os produtos adquiridos pela Alemanha (16,9%), Holanda (12,3%), Estados Unidos (11,5%), Inglaterra (9,3%), França (6,3%), entre outros. Na representação global, o Brasil ocupou a 42ª posição para exportações e 41ª para importações, assegurando um montante de US\$ 16,6 milhões com a exportação de bulbos, rizomas e tubérculos, mudas de plantas ornamentais e plantas vivas (COMTRADE, 2017).

O potencial de ascendência da floricultura brasileira no mercado externo é resultado das condições climáticas do país, que possibilitam a produção de muitas espécies de clima temperado e tropical, nativas e exóticas, contribuindo assim para o bom retorno financeiro com as exportações (FRANÇA; MAIA, 2008). O segmento de plantas em vaso participou, em 2014, com 39% do faturamento brasileiro obtendo um montante de R\$ 803 milhões, enquanto a produção de plantas para flores e folhagem de corte (30%) e mudas para paisagismo (31%), obtiveram R\$ 632 milhões e R\$ 652 milhões, respectivamente (NEVES; PINTO, 2015). A opção dos consumidores por plantas envasadas se deve aos menores custos, maior

longevidade e maior facilidade na decoração de ambientes internos e externos (SEBRAE, 2015b).

O dinamismo do mercado de flores e plantas ornamentais atrai produtores e consumidores ávidos por novidades no setor (NEVES; PINTO, 2015). O desenvolvimento de novas variedades tropicais, especialmente flores e fruteiras ornamentais como o abacaxi (SOUZA et al., 2005; 2012b; 2014; ALVES et al., 2014; TANIGUCHI et al., 2015), a banana (SOUZA et al., 2012a; SANTOS-SEREJO et al., 2012) e os citros (MAZZINI; PIO, 2010; SANTOS et al., 2015; 2016), surgem como uma alternativa para o mercado, pois têm boa aceitação internacional, além de se constituírem em um produto diferenciado. As espécies tropicais apresentam exuberância e alto valor agregado, estimulando a competitividade no mercado mundial (LANDGRAF; PAIVA, 2009; SOUZA et al., 2012b).

A região Nordeste destaca-se na produção de espécies tropicais, notadamente nos Estados do Ceará, Pernambuco, Alagoas e Bahia, onde há o cultivo de flores de corte como os antúrios (*Anthurium andraeanum* Linden), helicônias (*Heliconia* spp.), alpínias [*Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum], bastões do imperador (*Etilingera elatior* Jack), sorvetões (*Zingiber spectabile* Griff.), tapeinóquilos (*Tapeinochilus ananassae* Hassk), folhagens e fruteiras ornamentais (*Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B. Smith) Coppens & F. Leal, *Musa coccinea* Ander e *M. ornata* Ander). A expressividade nas exportações é observada no Ceará, Pernambuco e Alagoas que se consolidaram em atender demandas dos Estados Unidos e países europeus. A Bahia está voltada apenas para atender o mercado interno (FRANÇA; MAIA, 2008; SEBRAE, 2015a).

### **O abacaxi ornamental [*Ananas comosus* (L.) Merrill]**

O Brasil é um dos centros de origem do abacaxizeiro e onde se concentra a maior diversidade genética do gênero, devido à presença de espécies silvestres e cultivadas, localizadas em várias regiões do país. O gênero possui duas espécies: *A. macrodontes* E. Morren e *A. comosus*, sendo o primeiro monoespecífico e o segundo que abarca cinco variedades botânicas: *A. comosus* var. *ananassoides*, *A. comosus* var. *bracteatus*, *A. comosus* var. *erectifolius*, *A. comosus* var. *parguazensis* e *A. comosus* var. *comosus*, sendo esta última, a principal forma cultivada e com larga distribuição (CABRAL et al., 2004).

O fruto é bastante apreciado em todo mundo, agradando a todos os sentidos e podendo ser consumido principalmente *in natura*, com aproveitamento da polpa em doces, salgados, pastas, bolos e sucos. Os subprodutos (compostos secundários e fibras) são utilizados pelas indústrias farmacêuticas, automobilísticas e alimentícias na composição de medicamentos, em substituição à fibra de vidro no estofamento de carros e no processamento de cervejas, queijos e carnes (GRANADA et al., 2004; CRESTANI et al., 2010; MACIEL et al., 2015; YUSOF et al., 2015).

O potencial ornamental do abacaxizeiro é mais uma alternativa promissora de uso. Todavia apenas três variedades, *A. comosus* var. *erectifolius*, *A. comosus* var. *bracteatus* e *A. comosus* var. *ananassoides* são comercializadas no segmento de plantas de vaso e flores de corte. Elas se destacam pela durabilidade, beleza, exotismo e exuberância, características observadas nas pequenas infrutescências e coroas utilizadas em arranjos florais, parques e jardins (MARTINS et al., 2005; SOUZA et al., 2007; 2012b; 2014).

O abacaxizeiro ornamental é uma das espécies tropicais mais cultivadas na pauta da floricultura nordestina, gerando importantes receitas com a exportação. O Estado do Ceará é o que mais produz, destinando em 2005, 95,5% da produção para o mercado internacional (BRAINER; OLIVEIRA, 2007). O *A. comosus* var. *erectifolius* destaca-se entre os agricultores por ter folhas rígidas e estreitas, eretas, de coloração púrpura, sem espinhos foliares, frutos pequenos e hastes longas (CARVALHO et al., 2014).

Em vista disso, o abacaxi ornamental tornou-se um alvo de interesse para o programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura que detém um Banco Ativo de Germoplasma de Abacaxi (BAG Abacaxi) com mais de 600 acessos conservados em condições de campo e em laboratório (SOUZA et al., 2012b). A empresa tem por objetivo desenvolver novos híbridos para o mercado de flores nacional e internacional (SOUZA et al., 2006; 2009; 2014).

O estudo de pré-melhoramento do abacaxizeiro começou em 2003 e a maior variabilidade genética para fins ornamentais foi observada entre os acessos de *A. comosus* var. *ananassoides*, *A. comosus* var. *erectifolius*, *A. comosus* var. *bracteatus* e *A. macrodontes*. Foram identificadas características alinhadas para paisagismo, flores de corte, plantas de vaso, minifrutos, folhagem e cerca-viva e

selecionados acessos, com potencial para serem usados como parentais na geração de novos híbridos (SOUZA et al., 2012b; 2014).

O melhoramento genético de abacaxizeiros ornamentais precisa considerar as doenças que acometem o cultivo comercial do fruto voltado para a alimentação. Dentre essas doenças a fusariose é a que causa perdas significativas em grandes plantios. Conforme Souza et al. (2014), diversos híbridos selecionados como ornamentais, foram avaliados para fusariose, e muitos mostraram-se resistentes ou tolerantes.

Recentemente, duas cultivares de abacaxizeiro ornamental, BRS Boyrá e BRS Anauê, foram lançadas para atender o segmento de flores de corte, paisagismo e minifrutos (SOUZA et al., 2016a). Simultaneamente, outros estudos têm sido realizados visando o cultivo e a pós-colheita desses híbridos (COSTA JUNIOR et al., 2016).

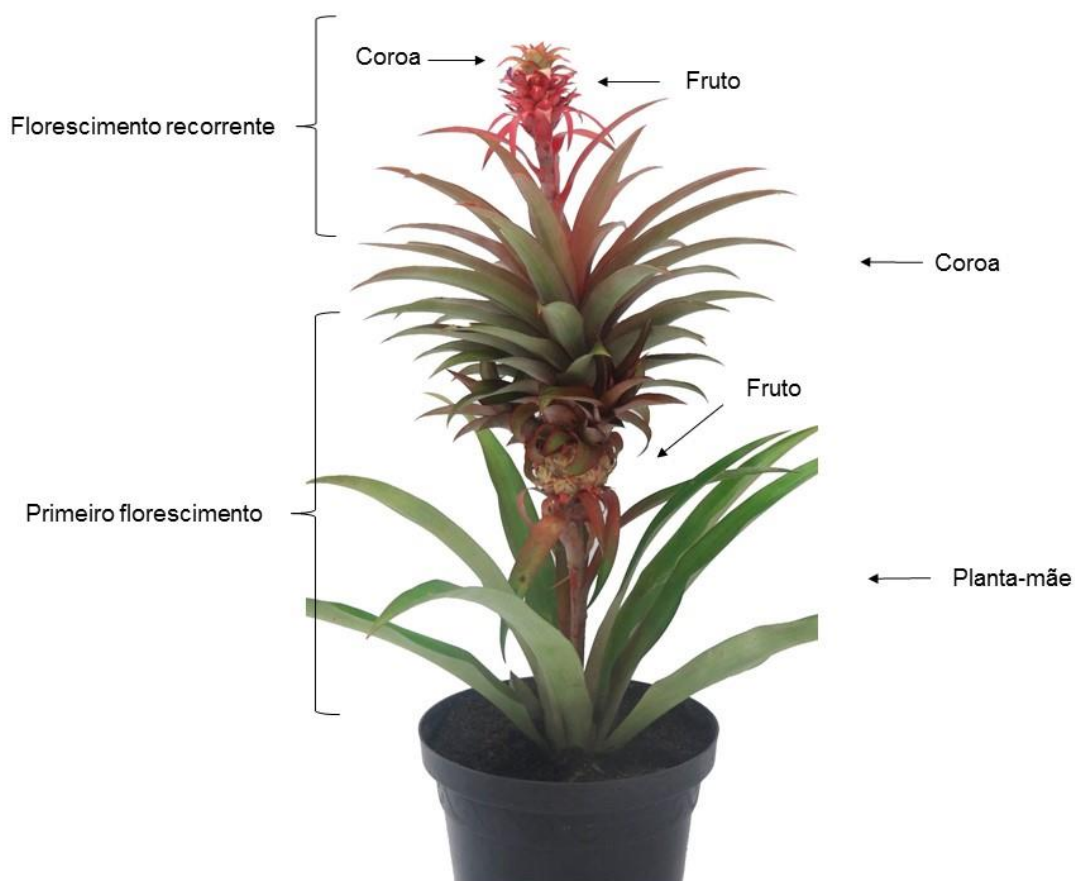
Por outro lado, estão sendo realizadas avaliações em híbridos que apresentaram potencial para uso como planta envasada. A tendência dos consumidores por plantas de vaso faz desta categoria para os abacaxizeiros uma alternativa muito interessante. A produção em vasos estabelece que as plantas devem ser compactas, com folhas e hastes curtas e frutos pequenos. A busca por essas características em plantas de abacaxi não tem sido fácil, devido ao tamanho da planta, de forma geral, e à sua morfologia, em todas as variedades botânicas. Dessa forma, a adequação de uma planta de abacaxi para seu uso em vaso, considerando todas as características para a obtenção de um produto de qualidade para o mercado, tem sido realizada por meio de ajustes no sistema de produção, o que é complexo, laborioso e relativamente lento.

No entanto, dentre os híbridos selecionados no programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura, um tem chamado a atenção, pelo porte extremamente reduzido, fruto de coloração rosada, ausência de espinhos e, principalmente, porque apresenta um florescimento recorrente na coroa do fruto formado após o ciclo completo da planta. O comportamento sugere uma mutação estável, já que tem se repetido por ciclos sucessivos. Entretanto, não foram realizados estudos que possam comprovar que tipo de mutação e qual sua origem. O resultado desse fenômeno é uma coroa, pequena, extremamente compacta com

uma haste floral e sua infrutescência e que, se torna, portanto, uma planta miniaturizada de abacaxi que se forma sobre a planta mãe (Figura 1).

Esse híbrido, nomeado como ORN-MUT, é resultante do cruzamento de *A. comosus* var. *bracteatus* X *A. comosus* var. *erectifolius* e vem sendo avaliado por mais de quatro ciclos de produção quanto à estabilidade genética da mutação. A recorrência do florescimento se repetiu em todos os ciclos e caracterizações morfológicas. Além disso, estudos fenológicos vêm sendo realizados, a fim de avaliar as principais características do híbrido (SILVA et al., 2016).

A possibilidade de se obter um produto diferenciado para o segmento de flores, uma planta de abacaxi miniaturizada e envasada, foi a motivação para a realização de um trabalho de pesquisa com este material.



**Figura 1.** Híbrido de abacaxizeiro ornamental ORN-MUT cultivado em vaso. Cruz das Almas, Bahia, 2017.

### **Avaliação clonal de abacaxi ornamental**

O desenvolvimento de novos híbridos de abacaxi ornamental é uma alternativa interessante à demanda da cadeia produtiva da floricultura por produtos inovadores. No entanto, para que novas cultivares sejam lançadas no mercado, é necessária uma avaliação clonal, para confirmar a homogeneidade das plantas (clones) e dos caracteres selecionados na hibridação (COSTA JUNIOR et al., 2016).

De acordo com a Lei 9.456/97 que institui a proteção intelectual de cultivares no Brasil, o novo material a ser lançado, ou cultivar candidata, é considerada distinta ao se diferenciar de qualquer outra variedade existente no mercado; homogênea ao não apresentar variação morfológica em plantio com escala comercial e estável ao manter suas características por meio de gerações sucessivas (BRASIL, 1997).

A avaliação clonal bem como os testes de DHE (Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade) para híbridos de abacaxi ornamental são baseados na aplicação de descritores morfológicos quantitativos e qualitativos publicados no diário oficial da União (DOU nº 02/2013). As características avaliadas ao longo do ciclo vegetativo e reprodutivo da espécie englobam desde o hábito de crescimento, altura, comprimento, largura da planta principal, frutos e coroa, até a coloração da cultivar, sendo esta baseada em um catálogo oficial de cores da Royal Horticultural Society (BRASIL, 2013).

### **A propagação de abacaxizeiros ornamentais**

O desenvolvimento de um novo híbrido deve vir acompanhado de estudos que possibilitem sua produção em larga escala de forma eficiente, segura e a partir de uma matriz de qualidade.

O abacaxizeiro é propagado convencionalmente por meio de mudas do tipo rebentão, filhote-rebentão, filhote e coroa, que se desenvolvem na planta-mãe. Por esse motivo, os plantios comerciais utilizam, geralmente, material propagativo adquirido do campo. Entretanto, essas mudas podem reduzir a produção em novas áreas de cultivo e favorecer a disseminação de pragas e doenças, sobretudo da fusariose (*Fusarium guttiforme* Nirenberg & O'Donnell) (REINHARDT; CUNHA, 2006) e da murcha do abacaxizeiro, causada pelo parasitismo da cochonilha



[*Dysmicoccus brevipes* (Cockerell)] que é vetora do complexo viral PMWaV (*Pineapple mealybug wilt-associated virus*) (SOUZA et al., 2013).

Os rebentões apresentam maior vigor, ciclo mais curto, floração natural precoce e menor uniformidade quanto ao tamanho e peso, sendo de difícil remoção da planta-mãe e com baixa disponibilidade de mudas. Os filhotes-rebentão apresentam produção limitada por planta. Já os filhotes estão disponíveis em maiores quantidades, são de fácil colheita e apresentam maior uniformidade e ciclo intermediário de cultivo. As coroas que, na maioria das vezes, acompanham os frutos na comercialização, apresentam maior uniformidade quanto ao tamanho e peso, menor vigor e ciclo mais longo do plantio à colheita, sendo utilizadas apenas em regiões onde o fruto é industrializado (REINHARDT et al., 2000; MATOS et al., 2009).

Outro método para se multiplicar o abacaxizeiro é por meio do seccionamento do talo. As gemas contidas nos pedaços do caule da planta-mãe ou de coroas e rebentões superam o estágio de dormência ao eliminar a ação de hormônios dominantes do meristema apical do caule, quando seccionado, induzindo à formação de brotações (REINHARDT; CUNHA, 2006). Neste método, o corte das seções facilita o exame visual das partes internas do vegetal e a destruição de todo o material que esteja com sintomas da fusariose. Os talos são tratados com solução aquosa de defensivos e posteriormente plantados em canteiros, onde ocorre a proliferação das mudas e retirada destas para local adequado até atingirem 40 cm de altura, quando são transferidas para o campo (SOUZA et al., 2002).

Conforme Reinhardt et al. (2013), em 1 hectare de canteiros podem ser cultivados até 550 mil pedaços de caule, obtendo-se aproximadamente 450 mil mudas de abacaxi, prontas para comercialização e plantio após 6 a 10 meses de cultivo. Em estudos realizados foi possível a obtenção de uma produção média de 10 mudas por talo de abacaxi para a cultivar Pérola e 20 mudas por talo para a cultivar BRS Imperial (PADUA, 2013). Já para a Smooth Cayenne, obtêm-se aproximadamente 7 mudas por talo de plantas matrizes em 8 meses de cultivo (GOTTARDI et al., 2002).

Por outro lado, a utilização de técnicas de cultura de tecidos vegetais, mais precisamente a micropropagação, possibilita a produção e seleção de mudas, antes

de serem plantadas em local definitivo. A capacidade de expressão propagativa das plantas é potencializada tornando essa estratégia uma alternativa para produção em larga escala de mudas saudáveis e que se mantêm geneticamente idênticas às plantas-matrizes (TEIXEIRA et al., 2001).

A micropropagação convencional do abacaxizeiro é realizada por meio de gemas axilares, que são tratadas em ambiente asséptico e inoculadas em meio nutritivo suplementado com fitoreguladores (SOUZA et al., 2012b). Os reguladores vegetais mais utilizados são as citocininas (6-benzilaminopurina - BAP) e as auxinas (ácido naftaleno acético - ANA), que estimulam a formação de brotações laterais e produção de raízes adventícias (PASQUAL et al., 2008; SOUZA et al., 2013).

Em estudos realizados com híbridos de abacaxi ornamental (FRF-1392 X FRF -32, G-44 X FRF- 1387, Curauá Roxo X Ananás Tricolor) em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) líquido e com diferentes combinações de citocininas e auxinas, a micropropagação proporcionou uma obtenção média de 11,16 brotos por explante (SOUZA et al., 2012c). Enquanto que, utilizando variedades comerciais (cv. Emepa 1) em meio MS sólido suplementado com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP mais 0,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA, o número médio de brotos/ explante foi de 15,4 (MORAES et al., 2010). Os estudos revelam a flexibilidade da técnica de micropropagação quanto ao uso de fitorreguladores e ao número de brotações obtidas ao longo dos subcultivos, demonstrando a necessidade de ajustes e adequações dos protocolos já existentes aos novos genótipos a serem avaliados.

Outro método que pode ser usado, a partir da micropropagação convencional, é o estiolamento das plantas obtidas *in vitro* e que consiste no alongamento dos entrenós do talo da planta, obtido a partir da incubação em ausência de luz. Esse sistema facilita o desenvolvimento das gemas axilares e, por conseguinte a manipulação das mudas regeneradas (KISS et al., 1995). As mudas micropropagadas por esse método sofrem menos lesões na zona de regeneração, reduzindo a possibilidade de formação de calo e conseqüentemente, proporcionando baixos níveis de variação somaclonal, que é beneficiada pelas baixas concentrações de reguladores de crescimento necessários para estiolar as hastes e proliferar as plantas (CARVALHO et al., 2012).

Estudos com essa técnica foram reportados por Souza et al. (2010b) com um híbrido de abacaxizeiro (PE x SC-60), no qual obtiveram um número médio de 23 brotos por planta estiolada. Os autores avaliaram o efeito do ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) e do ANA, tanto na fase de estiolamento, quanto seu efeito na posterior multiplicação. Comprovaram que apesar do ANA promover o melhor resultado para o estiolamento das plantas, deixou um efeito residual negativo para a regeneração destas, enquanto o tratamento que consistia do GA<sub>3</sub> na fase de estiolamento promoveu melhores taxas de multiplicação.

Carvalho et al. (2009) concluíram que o método do estiolamento de segmentos nodais e regeneração de brotos é viável para a multiplicação *in vitro* do abacaxizeiro ornamental, *Ananas comosus* var. *erectifolius*. Os resultados desse trabalho mostram que o uso de ANA a 10 µM é o melhor tratamento para o estiolamento dos brotos, enquanto para a regeneração, o BAP a 4,44 µM mostrou-se mais eficiente.

O estiolamento também foi testado para o cultivo de *Ananas comosus* var. *ananassoides*, onde obtiveram em média 6,11 brotos por explante, após 45 dias de cultivo, por meio da interação de BAP e GA<sub>3</sub> adicionados ao meio de cultura. De acordo com os autores o GA<sub>3</sub> proporcionou um maior comprimento da parte aérea e não influenciou no enraizamento dos explantes (DIAS et al., 2011).

No entanto, apesar da existência de diversos métodos para a produção de mudas de abacaxizeiro, não existe registro de um trabalho que possibilite uma comparação crítica, considerando a natureza e as peculiaridades de cada uma dessas estratégias, sendo essa, portanto, uma das propostas deste estudo.

### **Limpeza viral por meio do cultivo de ápices caulinares.**

Nos últimos anos, a murcha do abacaxizeiro vem causando sérios prejuízos à coleção de germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura devido à presença da cochonilha [*Dysmicoccus brevipes* (Cockerell)] que transmite o complexo viral PMWaV-1, 2 e 3 (*Pineapple mealybug wilt-associated virus*) às plantas cultivadas em campo (SANTOS et al., 2010).

A interação biológica do inseto com o vírus (PMWaV) provoca uma infecção sistêmica por toda a planta e os primeiros sintomas são observados no sítio de parasitismo do vetor (raízes e folhas) (ROHRBACH; JOHNSON, 2003). O sistema

radicular tem o seu desenvolvimento prejudicado a partir do apodrecimento dos tecidos vegetais, possibilitando que as plantas infectadas sejam facilmente arrancadas; as folhas apresentam o limbo retorcido com as pontas enroladas e necrosadas, assim como uma coloração vermelho-bronzeada (MATOS; MEISSNER FILHO, 2013). Esses sinais podem causar a morte da planta antes mesmo da frutificação ou impedir a produção normal de frutos, devido ao grande número de frutos (sincarpos) atrofiados e murchos, sem nenhum valor comercial (LACERDA et al., 2009).

A remoção e limpeza do PMWaV em acessos de abacaxizeiros vem sendo realizadas a partir do cultivo *in vitro* de ápices caulinares que são excisados de mudas micropropagadas em laboratório (SILVA, 2014). O sucesso da limpeza viral está altamente correlacionado com o tamanho da retirada do ápice, sendo que quanto menor o tamanho, maior será o êxito na remoção do complexo viral e também menor chance de sobrevivência do vírus (BISWAS et al., 2007).

Sabe-se que o vírus da murcha está localizado nos tecidos do floema da planta e que a região do domo meristemático é ausente desses tecidos e possui células de citoplasma altamente adensado (WANG; VALKONEN, 2009; NIEHL; HEINLEIN, 2011). Cortes histológicos demonstram que nessa região não há ou existe pouca vascularização, o que impede a colonização do vírus. Entretanto à medida que vai se distanciando do domo, os tecidos já começam a se diferenciar para tecidos transmissores (xilema e floema) e tecidos parenquimáticos (SOUZA et al., 2016b).

Deste modo, para uma limpeza e sobrevivência dos ápices caulinares deve-se deixar o domo intacto com apenas 1 a 2 primórdios foliares e com tamanho de 0,5 mm a 1,0 mm, sendo possível obter plantas saudáveis e livres do vírus PMWaV (SILVA, 2014).

O método também é utilizado associado à termoterapia e à crioterapia, que consistem em técnicas voltadas para a limpeza de viroses a partir do tratamento dos ápices em fonte de calor ou frio (SETHUR et al., 2001; BRISON et al., 1997; WANG, et. al., 2008; VIEIRA et al., 2015; SOUZA et al., 2010a; 2016b). Entretanto, para a cultura do abacaxi (*A. comosus* var. *bracteatus*) apenas a crioterapia, ainda em fase de estudos, tem sido relatada como uma possível estratégia complementar ao cultivo de ápices caulinares, tendo-se obtido resultados preliminares com

elevada porcentagem de plantas avaliadas livres do PMWaV (GUERRA et al., 2016).

O híbrido ORN-MUT, genótipo de abacaxi ornamental avaliado neste estudo, apresentou, em condições de campo, os sintomas característicos da murcha associada ao PMWaV. Diante disso ficou evidente a necessidade de se indexar as plantas matrizes para os tipos virais existentes, assim como proceder à sua limpeza por meio do cultivo de ápices caulinares, obtendo matrizes livres de vírus.

## **OBJETIVO GERAL**

O objetivo do trabalho foi realizar uma avaliação clonal e um estudo comparativo entre diferentes métodos de propagação vegetativa para a produção de mudas uniformes e sadias do híbrido miniaturizado de abacaxi ornamental ORN-MUT.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Realizar a avaliação clonal do híbrido de abacaxizeiro ornamental ORN-MUT utilizando descritores morfológicos quantitativos e qualitativos;

Comparar as técnicas de propagação convencional, seccionamento do talo, micropropagação convencional e micropropagação por estiolamento dos segmentos nodais do abacaxizeiro ornamental ORN-MUT;

Realizar a remoção e limpeza do complexo viral (PMWaV) em plantas cultivadas *in vitro* do híbrido avaliado.

## REFERÊNCIAS

AKI, A.; PEDROSA, J. M. Y. Aspectos da produção e consumo de flores e plantas ornamentais no Brasil. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 8, p. 13-23, 2002.

ALVES, K. A.; LONDE, L. N.; MELO, E. F.; RODRIGUES, G. B. Multiplication of ornamental pineapple in different concentrations of bap and periods evaluation of development *in vitro*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 188-198, 2014.

BISWAS, M.K.; HOSSAIN, M.; ISLAM, H. Virus free plantlets production of strawberry through meristem culture. **World Journal of Agricultural Sciences**, Dubai, n.3, v.6. p. 757-763, 2007.

BRAINER, M. S. C. P.; OLIVEIRA, A. A. P. **Floricultura**: perfil da atividade no nordeste brasileiro. Fortaleza: Série Documentos do ETENE, n. 17, p. 44- 45, 2007.

BRASIL. Ato nº 2, de 2 de janeiro de 2013. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 03 janeiro, 2013. Seção1, p 4.

BRASIL. Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 28 abril, 1997. Seção1, p 8241.

BRISON, M.; BOUCAUD, M. T.; PIERRONNET, A.; DOSBA, F. Effect of cryopreservation on the sanitary state of a cv. *Prunus* rootstock experimentally contaminated with Plum Pox Poty virus, **Plant Science**, Amsterdam, v. 123, n. 1, p. 189-196, 1997.

CABRAL, J. R. S.; CASTELLEN, M. S.; SOUZA, F. V. D.; MATOS, A. P.; FERREIRA, F. R. **Banco ativo de germoplasma de abacaxi**. Brasília: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 35 p.

CARVALHO, A. C. P. P.; SOUZA, F. V. D.; SOUZA, E. H. **Produção de abacaxizeiro ornamental para flor de corte**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria (Documentos 169), 2014, 44 p.

CARVALHO, A. C. P.; PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. M.; MORAES, J. P. S. **Estiolamento *in vitro* de plantas: alternativa para a produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical (Circular Técnica 42), 2012. 12p.

CARVALHO, A. P. P.; PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. M. G.; MORAIS, J. P. S. Multiplicação *in vitro* de abacaxi ornamental por estiolamento e regeneração de brotações. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.27, n.1 p.103-108, 2009.

COMTRADE. **United Nations Commodity Trade Statistics Database.** Disponível em: < <https://comtrade.un.org/data/>> Acesso em: 04 jan. 2017.

COSTA JUNIOR, D. S.; SOUZA, E. H.; PEREIRA, M. E. C.; SOUZA, F. V. D. Clonal evaluation of new ornamental pineapple hybrids to use as cut flowers. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 38, n. 4, p. 475-483, 2016.

CRESTANI, M.; BARBIERI, R. L.; HAWERROTH, F. J.; CARVALHO, D. I. F.; OLIVEIRA, A. C. Das Américas para o Mundo - origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p.1473- 1483, 2010.

DIAS, M. M.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G.; SANTOS, V. A.; OLIVEIRA, A. C.; RODRIGUES, V. A. Concentrações de reguladores vegetais no estiolamento *in vitro* de ananás do campo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 513-520, 2011.

FRANÇA, C. A. M.; MAIA, M. B. R. **Panorama do agronegócio de flores e plantas ornamentais do Brasil.** Rio Branco: Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2008. 10p.

FRANÇA, C. A. M.; SOUZA, M. P.; PEDROSO, E. A.; SILVA, T. N.; SOUZA FILHO, T. A. **Flores e folhagens tropicais: mercado em expansão.** V Encontro Nacional de Anppas, Florianópolis, 2010. 18p.



GOTTARDI, M. V. C.; LEMOS, E. G. M.; RUGGIERO, C. Avaliação por RAPD de plantas de abacaxizeiro cultivar Smooth Cayenne derivadas do seccionamento do talo e cultura de tecidos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 001-005, 2002.

GRANADA, G. G.; ZAMBIAZI, R. C.; MENDONÇA, C. R. B. Abacaxi: produção, mercado e subprodutos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 405-422, 2004.

GUERRA, P. A.; SILVA, B. F. B.; SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D. Crioterapia de ápices caulinares para remoção do complexo viral da murcha do abacaxizeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 4., 2016, Curitiba. **Anais...**, Curitiba: Centro de Convenções Expo Unimed, 2016. 715 p.

IBRAFLOR- INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA. **O mercado de flores no Brasil**. 2015. Disponível em: <<http://www.ibraflor.com/publicacoes/vw.php?cod=235>>. Acesso em: 01 jun. 2015.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 20, n. 2, p.115- 120, 2014.

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

LACERDA, J. T.; CARVALHO, R. A.; OLIVEIRA, E. F. Cochonilha *Dymicoccus brevipes*: a praga cosmopolita da abacaxicultura. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 3, n. 2, p. 15-21, 2009.

LANDGRAF, P. R. C.; PAIVA, P. D. O. Produção de flores cortadas no estado de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 120-126, 2009.

MACIEL, A. R.; SILVA, I. S.; PEREIRA NETA, I. B.; ROCHA, N. R. S.; SILVA, R. N.; SEIXAS, V. N. C. Amaciantes cárneos: tipos e aplicação em carne bovina. **Desafios**, Tocantins, v. 2, n. 1, p. 160- 174, 2015.

MARTINS, V. A.; FERREIRA, F. R.; FÁVERO, A. P. Elaboração de descritores para caracterização e avaliação de germoplasma de abacaxi ornamental. In: ENCONTRO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MELHORAMENTO DE PLANTAS REGIONAL DF, 2005, Brasília. **Resumos...** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. p 128.

MATOS, A. P.; MEISSNER FILHO, P. E. **Doenças**. In: SANCHES, N. F.; MATOS, A. P. Abacaxi: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília: Embrapa, 2013. p. 141-150.

MATOS, A. P.; REINHARDT, D. H.; SANCHES, N. F.; SOUZA, L. F. S.; TEIXEIRA, F. A.; ELIAS JUNIOR, J.; GOMES, D. C. **Produção de mudas sadias de abacaxi**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura (Circular Técnica 89), 2009. 12 p.

MAZZINI, R. B.; PIO, R. M. Caracterização morfológica de seis variedades cítricas com potencial ornamental. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 463-470, 2010.

MORAES, A. M.; ALMEIDA, F. A. C.; BRUNO, R. L. A.; CAZÉ FILHO, J.; NUNES, S. T.; GOMES, J. P. Micropropagação de abacaxizeiro cv. Emepa 1. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 9, p. 932-936, 2010.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for a rapid growth and bio assays with tobacco tissues cultures. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 15, n. 3, p. 473-479, 1962.

NEVES, M. F.; PINTO, M. J. A. **Mapeamento e quantificação da cadeia de flores e plantas ornamentais do Brasil**. São Paulo: OCESP, 2015. cap. 5, p. 52-96.

NIEHL, A.; HEINLEIN, M. Cellular pathways for viral transport through plasmodesmata. **Protoplasma**, Leipzig, v. 248, n. 1, p. 75-99, 2011.

PÁDUA, T. R. P. **Tecnologia de produção de mudas de abacaxi**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2013. 10 p.

PASQUAL, M.; SANTOS, F. C.; FIGUEIREDO, M. A.; JUNQUEIRA, K. P.; REZENDE, J. C.; FERREIRA, E. A. Micropropagação do abacaxizeiro ornamental. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 45- 49, 2008.

REINHARDT, D. H. R. C.; CUNHA, G. A. P. **A propagação do abacaxizeiro**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica (Coleção Plantar 52), 2006. 59 p.

REINHARDT, D. H. R. C.; MATOS, A. P.; CUNHA, G. A. P.; LIMA, V. P. **Propagação**. In: SANCHES, N. F.; MATOS, A. P. Abacaxi: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília: Embrapa, 2013. p. 33-49.

REINHARDT, D. H. R. C.; SOUZA, L. F. S.; CABRAL, J. R. S. **Abacaxi. Produção**: aspectos técnicos. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 77 p.

ROHRBACH, K. G.; JOHNSON, M. W. **Pests, diseases and weeds**. In: BARTHOLOMEW, D. P.; PAULL, R. E.; ROHRBACH, K. G. The pineapple: botany, production and uses. Wallingford: CABI Publishing, 2003, p. 203-251.

SANTOS, A. R. A.; SOUZA, E. H.; FADINI, M.; SOUZA, F. V. D.; BARBOSA, C. J.; GIRARDI, E. A.; SOARES FILHO, W. S. Selection of CTV-tolerant citrus hybrids for ornamental use. **Fruits**, Paris, v. 71, n.6, p. 389- 398, 2016.

SANTOS, A. R. A.; SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; GIRARDI, E. A.; SOARES FILHO, W. S. Genetic variation of Citrus and related genera with ornamental potential. **Euphytica**, Wageningen, v. 205, n. 2, p. 503, 2015.

SANTOS, K. C.; SANTOS, A. F.; ANDRADE, E. C. Incidência do pineapple mealybug wilt associated vírus, PMWaV no banco ativo de germoplasma de abacaxi *in vitro* da Embrapa Mandioca e Fruticultura. In: JORNADA CIENTÍFICA-EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA, 4.,2010, Cruz das Almas. **Anais...**, Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2010.

SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; COSTA, M. A. P. C.; COSTA JUNIOR, D. S.; AMORIM, E. P.; SILVA, S. O.; SOUZA, F. V. D. Selection and use recommendation in hybrids of ornamental banana. **Crop Science**, Madison, v. 52, 2012.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO AS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS-SEBRAE. **Flores e plantas ornamentais**: série estudos mercadológicos. Brasília: SEBRAE. 2015a. v. 1. 44 p.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO AS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS-SEBRAE. **Flores e plantas ornamentais**: série estudos mercadológicos. Brasília: SEBRAE. 2015b. v. 2. 100 p.

SETHER, D. M.; KARASEV, A. V.; OKUMURA, C. ARAKAWA, C.; ZEE, F.; KISLAN, M. M.; BUSTO, J. L.; HU, J.S. Differentiation, distribution, and elimination of two different Pineapple mealybug wilt associated viruses found in pineapple. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, n. 8, p. 856-864, 2001.

SILVA, B. F. B.; SOUZA, E. H.; GUERRA, P. A.; SOUZA, F. V. D. Caracterização morfológica e fenológica de um mutante floral de abacaxizeiro ornamental voltado para planta de vaso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 4., 2016, Curitiba. **Anais...**, Curitiba: Centro de Convenções Expo Unimed, 2016.

SILVA, R. L. Viabilidade, estabilidade genética e limpeza viral de plantas de abacaxizeiro mantidas sob conservação *in vitro* por dez anos. 2014. 87 f. **Dissertação** (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2014.

SOUZA, A. G. C.; SILVA, S. E. L; SOUZA, M. G. **Produção de mudas frutíferas**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental (Circular técnica 15), 2002. 12 p.

SOUZA, E. H.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, F. V. D. Seleção e recomendação de uso de híbridos ornamentais de abacaxi. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 2, p. 409- 416, 2014.

SOUZA, E. H.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, F. V. D.; COSTA JUNIOR, D. S.; AMORIM, E. P.; SILVA, S. O.; SANTOS-SEREJO, J. A. Genetic variability of banana with ornamental potential. **Euphytica**, Dordrecht, v. 184, n.3, p. 355-367, 2012a.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; COSTA JUNIOR, D. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; LEDO, C. A. S. Genetic variation of the *Ananas* genus with ornamental potential. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Netherlands, v. 59, p. 1357-1476, 2012b.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; SILVA, M. J.; SOUZA, A. S.; COSTA, M. A. P. C. Growth regulators and physical state of culture media in the micropropagation of ornamental pineapple hybrids. **Plant Cell Culture Micropropagation**, Lavras, v. 8, n. 1-2, p. 10- 17, 2012c.

SOUZA, F. V. D., CHUMBINHO, E. A.; JUNGHANS, D. T.; CARVALHO, E. L.; SANTOS, K. C. Cultivo de meristemas apicais de plantas *in vitro* para limpeza viral em abacaxi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 21., 2010, Natal. **Anais...**, Natal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2010a.

SOUZA, F. V. D.; CABRAL, J. R. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; CASTELLAN, M. S.; RITZINGER, R.; PASSOS, O. S. Pesquisas em andamento com fruteiras ornamentais. In: INTERNATIONAL WEEK OF FRUIT CROP, FLORICULTURE AND AGROINDUSTRY, 12., 2005, Fortaleza. **Anais...**, Fortaleza: Frutal, 2005.

SOUZA, F. V. D.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, E. H.; FERREIRA, F. R.; NEPOMUCENO, O. S.; SILVA, M. J. Evaluation of F1 hybrids between *Ananas comosus* var. *ananassoides* and *Ananas comosus* var. *erectifolius*. **Acta Horticulturae**, João Pessoa, v. 822, p. 79-84, 2009.

SOUZA, F. V. D.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, E. H.; SANTOS, O. S. N.; SANTOS-SEREJO, J. A.; FERREIRA, F. R.; SILVA, M. J. **Abacaxi ornamental – uma riqueza a ser explorada**. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Abacaxi em foco, Cruz das Almas, n. 37, 2007.

SOUZA, F. V. D.; CANTO, A. M. M. E.; SOUZA, A. S.; COSTA, M. A. P. C. Residual effect of growth regulators in etiolation na regeneration of *in vitro* pineapple plants. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 612-617, 2010b.

SOUZA, F. V. D.; KAYA, E.; VIEIRA, L. J.; SOUZA, E. H.; AMORIM, V. B. O.; SKOGERBOE, D.; MATSUMOTO, T.; ALVES, A. A. C.; LEDO, C. A. S.; JENDEREK, M. M. Droplet-vitrification and morphohistological studies of cryopreserved shoot tips of cultivated and wild pineapple genotypes. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 124, n. 2, p. 351-360, 2016b.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; JUNGHANS, T. G.; SILVA, M. J. **Micropropagação do abacaxizeiro e outras bromeliáceas**. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. Aspectos práticos da micropropagação de plantas. Brasília: Embrapa, 2013, p. 189-215.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, E. H.; SANTOS-SEREJO, J. A.; PEREIRA, M. E. C. BRS Boyrá e BRS Anauê: cultivares de abacaxizeiros ornamentais destinados para flor de corte, paisagismo e minifrutos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 24., 2016, São Luís. **Anais...**, São Luís: Hotel Luzeiros, 2016a.

SOUZA, F. V. D., CABRAL, J. R.S., SANTOS-SEREJO, J. A., MATOS, A. P., REINHARDT, D. H., CUNHA, G. A. P., FERREIRA, F.R.; PEREIRA, J. A. Identification and selection of ornamental pineapple plants. **Acta Horticulturae**, Port Alfred, v. 702, n. 1, p 93-97, 2006.

TANIGUCHI, C. A. K.; CASTRO, A. C. R.; SILVA, T. F.; CAFÉ, F. B. S. Development of pineapple as an ornamental potted plant. **Acta Horticulturae**, Belgium, v. 1087, p. 379-384, 2015.

TEIXEIRA, J. B.; CRUZ, A. R. R.; FERREIRA, F. R.; CABRAL, J. R. S. Biotecnologia aplicada a produção de mudas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 3, n. 19, p. 42-47, 2001.

VIEIRA, R. L.; SILVA, A. L.; ZAFFARI, G. R.; STEINMACHER, D. A.; FRAGA, H. P. F.; GUERRA, M. P. Efficient elimination of virus complex from garlic (*Allium sativum* L.) by cryotherapy of shoot tips. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 37, n. 1, p. 1733-1744, 2015.

WANG, Q.; CUELLAR, W.J.; RAJAMÄKI, M. J.; HIRATA, Y; VALKONEN, J. P. Combined thermotherapy and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of

virus distribution, subcellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. **Molecular Plant Pathology**, San Francisco, v.9, n.2, p. 237-250, 2008.

WANG, Q.; VALKONEN, J. P. T. Cryotherapy of shoot tips: novel pathogen eradication method. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 14, n. 3, p. 119-122, 2009.

YUSOF, Y.; YAHYA, S. A.; ADAM, A. Novel technology for sustainable pineapple leaf fibers productions. **Procedia CIRP**, Amsterdã, v. 26, p. 756- 760, 2015.

## **CAPITULO 1**

### **AVALIAÇÃO CLONAL E DO FLORESCIMENTO RECORRENTE DE HÍBRIDO ORNAMENTAL DE ABACAXI COM POTENCIAL DE USO COMO PLANTA DE VASO<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Capítulo a ser submetido ao comitê editorial do periódico Crop Science



# AVALIAÇÃO CLONAL E DO FLORESCIMENTO RECORRENTE DE HÍBRIDO ORNAMENTAL DE ABACAXI COM POTENCIAL DE USO COMO PLANTA DE VASO

Autora: Bruna de Fátima Batista da Silva

Orientadora: Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza

Coorientador: Dr. Everton Hilo de Souza

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi realizar a avaliação clonal de um híbrido de abacaxizeiro ornamental denominado ORN-MUT. Esse híbrido é uma novidade e poderá ser usado como planta de vaso miniaturizada. O ORN-MUT apresenta porte reduzido, fruto de coloração rosada, ausência de espinhos e um florescimento recorrente na coroa do fruto, formado após o ciclo completo da planta (562 dias). O híbrido foi avaliado no campo experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura nas duas etapas de florescimento (primeiro florescimento e florescimento recorrente) e caracterizado por meio de descritores morfológicos quantitativos e qualitativos. Uma análise conjunta dos dados (análise multivariada) foi realizada para verificar a distinguibilidade e uniformidade dos clones e parentais. O ORN-MUT apresentou uniformidade no primeiro florescimento completando o ciclo fenológico aos  $75,70 \pm 8,01$  dias (primeira repetição) e  $72,35 \pm 6,17$  dias (segunda repetição) após a indução floral, respectivamente. O florescimento recorrente ocorreu aos  $170,60 \pm 1,85$  dias após a indução. O híbrido possui hábito de crescimento semiereto com porte baixo, tem folhas esverdeadas, curtas e largas, sem espinhos, sem variegação marginal e pouca antocianina. O pedúnculo é reto e curto com comprimento médio de  $19,30 \pm 3,83$  cm. O sincarpo é pequeno e possui coloração rosada, de formato cônico cilíndrico. A coroa possui ápice moderadamente agudo com coloração central esverdeada e bordas rosadas. No florescimento recorrente, as plantas são menores com tamanho médio de  $24,45 \pm 2,52$  cm. O sincarpo é miniaturizado apresentando em média,  $1,20 \pm 1,15$  camadas de frutinhos e  $1,61 \pm 0,20$  cm de comprimento. As características morfológicas quantitativas e qualitativas permitem enquadrá-lo na categoria de plantas de vaso.

**Palavras-chave:** *Ananas comosus* (L.) Merrill; caracterização morfológica; fenologia; floricultura

## CLONAL EVALUATION AND RECURRENT FLOWERING OF PINEAPPLE ORNAMENTAL HYBRID WITH POTENTIAL FOR USE AS POTTED PLANT

Author: Bruna de Fátima Batista da Silva

Advisor: Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza

Co-advisor: Dr. Everton Hilo de Souza

**ABSTRACT:** This work aimed to perform the clonal evaluation of one ornamental hybrid of pineapple called ORN-MUT. This hybrid is a novelty to be used as potted and miniaturized plant. The ORN-MUT presents reduced size, fruit of rosy color, absence of spines and a recurrent flowering above the crown of the fruit, formed after the complete cycle of the plant (562 days). The hybrid evaluation was carried out in the field of Embrapa Cassava and Fruits during two flowering stage (first flowering and recurrent flowering). The characterization was performed by the application of quantitative and qualitative morphological descriptors. A multivariate analysis was performed to verify the distinguishability and uniformity of the clones and parental. The ORN-MUT hybrid showed uniformity in the first flowering, completing the phenological cycle at  $75.70 \pm 8.01$  (first repetition) and  $72.35 \pm 6.17$  days (second repetition) after floral induction, respectively. The recurrent flowering occurred at  $170.60 \pm 1.85$  days after induction. The hybrid presents semi-erect growth habit with low size. The leaves are greenish, short and large, without spines, with marginal variegation and few presence of anthocyanin. The peduncle is straight and short with an average length of  $19.30 \pm 3.83$  cm. The syncarp is small and have a pinkish color, with a cylindrical and conical shape. The crown presents moderately acute apex with greenish central coloration and pink borders. In recurrent flowering, the plants are smaller than mother plant with an average size of  $24.45 \pm 2.52$  cm. The syncarp is very small (miniaturized) with an average of  $1.20 \pm 1.15$  layer of fruit and  $1.61 \pm 0.20$  cm in length. Not all the clones of the *recurrent flowering* presented fruit. Some plants only formed crowns without fruit. The quantitative and qualitative morphological traits allowed include this hybrid to be used as potted plants.

**Key words:** *Ananas comosus* (L.) Merrill; morphological characterization; phenology; floriculture

## INTRODUÇÃO

O abacaxizeiro [*Ananas comosus* (L.) Merrill], pertencente à família Bromeliaceae, é originário das regiões tropicais e subtropicais do continente americano (PALMA-SILVA et al., 2016). O seu fruto apresenta um formato peculiar e uma exuberante coroa que o fez ser considerado o “rei dos frutos” apreciado em todo o mundo, tanto *in natura* como de forma industrializada (CRESTANI et al., 2010).

Nos últimos anos, algumas variedades de abacaxi (*Ananas comosus* var. *erectifolius*, *A. comosus* var. *bracteatus* e *A. comosus* var. *ananassoides*) estão sendo utilizadas em um programa de melhoramento genético para fins ornamentais (SOUZA et al., 2012). Os novos híbridos se destacam por sua durabilidade, beleza, originalidade e exuberância e podem ser utilizados em arranjos florais, parques e jardins constituindo-se em uma inovação para o segmento de flores de corte, minifrutos e plantas de vaso (SOUZA et al., 2014).

A produção de abacaxizeiros em vasos requer plantas compactas, o que significa frutos pequenos, folhas e hastes curtas. A busca por essas características não tem sido fácil, já que o tamanho da planta pode, muitas vezes, passar de um metro de altura em quase todas as variedades botânicas. Dessa forma, a adequação de uma planta de abacaxi para seu uso em vaso, considerando todas as características para a obtenção de um produto de qualidade para o mercado, tem sido realizada por meio de ajustes no sistema de produção, o que é complexo, laborioso e relativamente lento.

A Embrapa Mandioca e Fruticultura desenvolve estudos com híbridos de abacaxi ornamental voltado para essa categoria. O porte reduzido é a principal característica avaliada, bem como outros atributos qualitativos. De acordo com Souza et al. (2014), dois híbridos, resultantes dos cruzamentos entre FRF-1392 X FRF-224 e FRF-1387 X FRF-224, possuem porte reduzido para altura da planta, comprimento e largura das folhas podendo ser selecionados para o uso em vaso. Do mesmo modo, Taniguchi et al. (2015), avaliando dois híbridos de abacaxi ornamental (A e D) oriundos do mesmo programa de melhoramento, os consideraram adequados para o cultivo em vaso, pois apresentaram altura média de 49,8 cm e 38,8 cm, respectivamente.

No entanto, nas progênies que foram avaliadas, um híbrido de abacaxi ornamental denominado de ORN-MUT, se destacou por apresentar além de porte reduzido, um fruto de coloração rosada e atraente, ausência de espinhos e, principalmente, uma fenologia que apresenta um florescimento recorrente acima da coroa do fruto (sincarpo), formado após o ciclo completo da planta. O resultado desse fenômeno é uma "nova planta", muito pequena, extremamente compacta e com uma haste floral e infrutescência que a torna uma planta miniaturizada de abacaxi sobre a planta mãe (SILVA et al., 2016).

A avaliação clonal desse genótipo é uma etapa fundamental para confirmar as características morfológicas selecionadas e se obter um produto muito diferenciado para o segmento de flores, isto é, uma planta de abacaxi miniaturizada e envasada. Os ensaios para híbridos de abacaxizeiros ornamentais se baseiam no emprego de descritores morfológicos quantitativos e qualitativos publicados no diário oficial da União (DOU nº 02/2013). As características avaliadas ao longo do ciclo vegetativo e reprodutivo da espécie englobam desde o hábito de crescimento, altura, comprimento, largura da planta principal, frutos e coroa, até a coloração da cultivar, sendo esta avaliada com base no catálogo oficial de cores da Royal Horticultural Society (BRASIL, 2013).

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi realizar a avaliação clonal e avaliar o florescimento recorrente do híbrido miniaturizado ORN-MUT a partir de descritores morfológicos quantitativos e qualitativos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi conduzido no campo experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada no município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil que, apresenta condições climáticas segundo classificação de Köppen (KOPPEN, 1936) de transição entre as zonas Am e Aw, com precipitação pluviométrica média anual de 1.143 mm, temperatura média de 24,28 °C e umidade relativa de 60,47%. O solo da área experimental é um Latossolo Amarelo distrófico típico, A moderado, com textura franco-argiloarenosa, caulínico, hipoférrico e fase de transição floresta tropical subperenifólia/ subcaducifólia com declive de 0 a 3%.

O híbrido miniaturizado denominado ORN-MUT é resultante do cruzamento *A. comosus* var. *bracteatus* X *A. comosus* var. *erectifolius*. Foi realizada a avaliação clonal simultaneamente com seus parentais em competição lado a lado, nas duas fases de florescimento (Primeiro florescimento e florescimento recorrente), constituindo-se de 20 plantas por repetição. Foram realizadas duas repetições totalizando 40 plantas avaliadas. Os dados de temperatura e precipitação pluviométrica mensal para o período de avaliação do estudo, foram obtidos a partir de uma estação meteorológica de observação de superfície automática.

O plantio das mudas foi realizado no mês de julho de 2015. Estas foram irrigadas e receberam tratamentos culturais e fitossanitários, conforme a necessidade da cultura, durante todas as fases da avaliação clonal. Após 12 meses de cultivo foi realizada a indução floral das plantas com Ethrel 240® (Ethepon) a 500 ppm do princípio ativo mais 3% de uréia via pulverização na roseta foliar (SOUZA et al., 2009). Não foi realizada a indução para a avaliação do florescimento recorrente, mas esperou-se o florescimento natural. Para o estudo fenológico foram avaliadas as seguintes variáveis: emergência do botão floral (nº de dias após a indução); abertura da 1ª flor (nº de dias após a emergência do botão floral) e fechamento da última flor (nº de dias após a emergência do botão floral) para a primeira fase de florescimento dos clones e para a fase de florescimento recorrente do ORN-MUT. Essas variáveis, ao final, foram observadas considerando o ciclo completo da planta: do plantio ao fechamento da última flor, de acordo com um critério estabelecido por Souza et al. (2012).

Para a avaliação clonal foi utilizada a mesma lista de descritores morfológicos desenvolvidos para execução dos ensaios de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE) de abacaxi ornamental (BRASIL, 2013). Avaliaram-se nove descritores quantitativos, sendo: altura da planta (cm), mensurada a partir do solo a ponta da folha mais alta na posição natural; comprimento da folha D (cm); largura da folha D (cm); comprimento do pedúnculo (cm); diâmetro do pedúnculo (cm); comprimento do sincarpo (cm); diâmetro do sincarpo (cm); comprimento da coroa (cm) e diâmetro da coroa (cm). Além disso, contabilizou-se o número de camadas de frutinhos, avaliadas horizontalmente ao longo do sincarpo bem como o número de folhas da coroa da planta-mãe e da coroa secundária, no florescimento recorrente. Avaliaram-se 21 descritores qualitativos

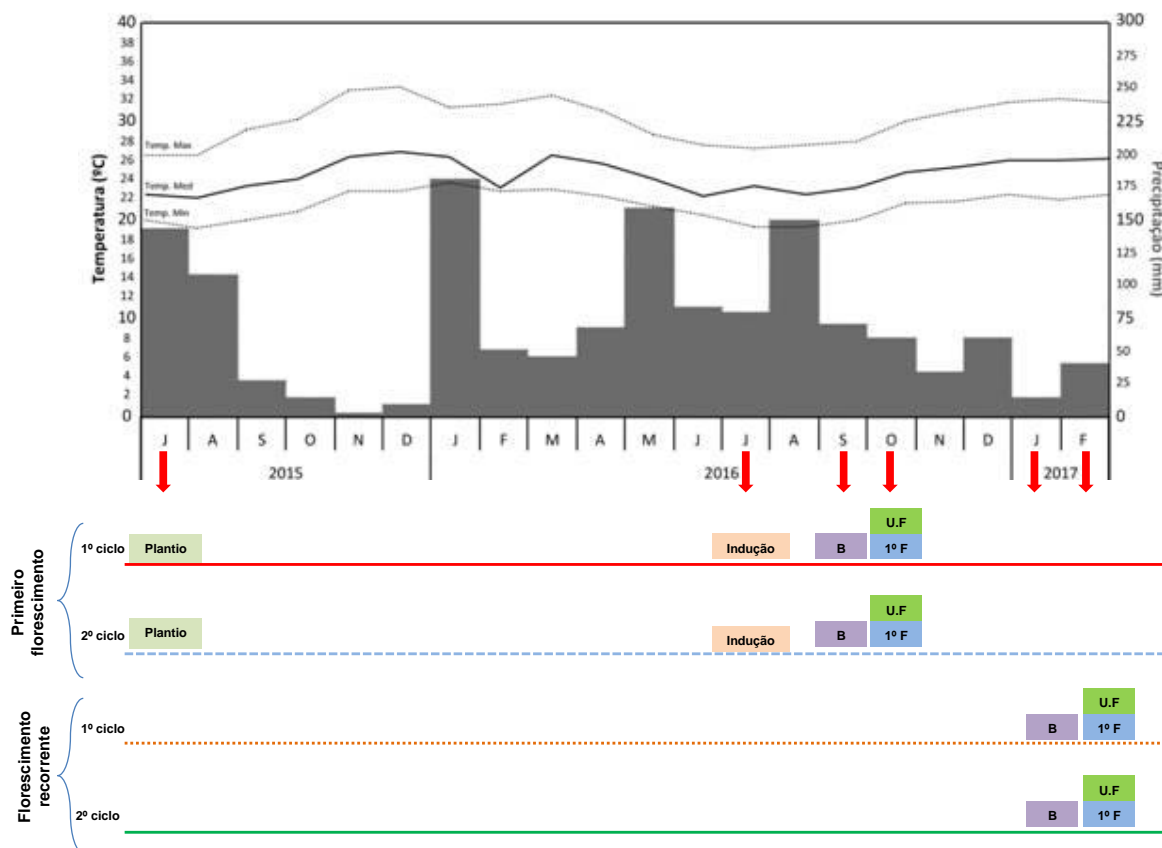
(hábito de crescimento; variegação da folha; distribuição da variegação da folha; coloração principal na face superior da folha; pigmentação antocianina; presença de espinhos nas folhas; cor dos espinhos nas folhas; ondulação nas bordas do limbo da folha; forma do pedúnculo; coloração externa da casca do fruto; forma do sincarpo; formato do ápice das brácteas do frutílo; cor da bráctea do frutílo; bráctea na base da coroa; sobreposição da bráctea em relação ao frutílo; cor da bráctea na base em relação à coroa; coloração da bráctea da coroa; relação do comprimento da coroa com o comprimento do fruto; relação do diâmetro da coroa com o diâmetro do fruto; número de cores da coroa e formato do ápice da coroa). As cores foram avaliadas com base na tabela de cores da Royal Horticulture Society (RHS) Colour chart, adotada para proteção de plantas ornamentais pela UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants). Para os dados quantitativos foram calculadas as seguintes estatísticas descritivas: média, valor mínimo, valor máximo, desvio padrão e coeficiente de variação, com auxílio do programa estatístico SAS (SAS Institute, 2010).

Uma análise conjunta dos dados qualitativos e quantitativos foi realizada para determinação da distância genética, com base no algoritmo de Gower (1971). Os agrupamentos hierárquicos dos acessos foram obtidos pelo método de UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average*) a partir da distância euclidiana média entre os clones do híbrido e dos parentais. A validação dos agrupamentos foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenético ( $r$ ) (SOKAL; ROHLF, 1962). Os dados obtidos da distância genética, dos agrupamentos hierárquicos e da correlação cofenética foram submetidos ao programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2006). A correlação entre as matrizes (primeiro florescimento e florescimento recorrente) foi calculada pelos testes  $t$  e de Mantel (10.000 permutações). O dendrograma foi gerado com base na matriz de distâncias pelo programa MEGA 6 (TAMURA et al., 2013).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O híbrido de abacaxizeiro ornamental ORN-MUT apresentou uniformidade no tempo de florescimento no primeiro ciclo de produção avaliado em ambas as repetições. Na primeira repetição a emergência do botão floral ocorreu aos  $48,80 \pm 5,11$  dias após a indução artificial, a abertura da primeira flor aos  $17,40 \pm 3,36$  dias após a emergência do botão floral e o fechamento da última flor ocorreu aos  $9,50 \pm 4,89$  dias após a abertura da primeira flor. A frutificação se completou aos  $75,70 \pm 8,01$  dias após a indução e o ciclo completo da planta foi de  $445,70 \pm 8,01$ , considerando-se o número de dias do plantio até o final da frutificação. Vale destacar que se considera o final da frutificação, para genótipos de uso ornamental, quando se registra o fechamento da última flor do fruto.

Na segunda repetição, a emergência do botão floral foi registrada aos  $47,20 \pm 3,09$  dias após a indução artificial, a abertura da primeira flor aos  $15,70 \pm 3,60$  dias após a emergência do botão floral e a última flor aos  $9,45 \pm 3,41$  dias após a abertura da primeira flor. A frutificação completa ocorreu aos  $72,35 \pm 6,17$  dias após a indução floral e  $442,35 \pm 6,17$  dias foi o tempo registrado para o ciclo completo (Tabela 1). Os resultados demonstraram uniformidade de florescimento e frutificação do híbrido, considerando a primeira fase de florescimento antes da emergência da nova inflorescência na coroa, que chamamos neste trabalho de florescimento recorrente. Não foi observado a influência da temperatura e pluviosidade nos meses de emergência do botão floral, abertura e fechamento da última flor, conforme a Figura 1, havendo pouca variação nos dados climáticos nas etapas de avaliação.



**Figura 1.** Dados de temperatura e precipitação pluviométrica de Cruz das Almas, Bahia obtidos durante o período de avaliação clonal em campo com o híbrido ORN-MUT de abacaxi ornamental. B) Período de emergência do botão floral; 1ºF) Período de abertura da primeira flor; UF) Período de fechamento da última flor. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

Aos  $170,60 \pm 1,85$  dias após a indução, o ORN-MUT apresentou um ciclo recorrente de florescimento e frutificação na coroa do fruto formado na planta-mãe. A abertura da primeira flor, neste ciclo, ocorreu aos  $18,20 \pm 1,82$  dias após a emergência do botão floral na coroa e a última flor surgiu aos  $3,80 \pm 0,41$  dias após a abertura da primeira flor. O florescimento na coroa de um fruto não é comum em variedades ornamentais ou mesmo em comerciais para uso alimentar de abacaxizeiros e até então não foi relatado na literatura. Assim, o ciclo completo de frutificação do ORN-MUT, considerando o primeiro florescimento e o que ocorreu na coroa do fruto, foi de  $192,60 \pm 0,82$  dias após a indução e o ciclo completo da planta, do plantio até o final do segundo florescimento, foi de  $562,60 \pm 0,82$  dias (Tabela 1). Vale ressaltar que no ciclo recorrente, avaliou-se o florescimento



apenas da primeira repetição. Os clones da segunda repetição apresentaram grande instabilidade no tempo de florescimento, não sendo possível obter dados concisos para a avaliação clonal.

A uniformidade de florescimento observada no primeiro ciclo avaliado não se repetiu no florescimento recorrente da coroa, quando se registrou variação no tempo do florescimento e nas camadas de frutinho que formavam os pequenos sincarpas, assim como ausência dos frutinhos, com plantas que apresentaram apenas coroa.

Esse híbrido vem sendo mantido em um matrizeiro desde 2010 e essa característica (florescimento recorrente) tem se mantido estável ao longo de vários ciclos, o que sugere ser o resultado de uma mutação envolvendo alterações no padrão de morfogênese e diferenciação celular do meristema apical da coroa (RODRIGUES; KERBAUY, 2009).

O início do florescimento se dá pelo aumento na taxa de divisão das células centrais do meristema apical, que por fim se transforma num meristema primário de inflorescência e que produz meristemas florais (VAZ et al., 2004).

De acordo com Cunha (2005) podem ser observados dois aspectos no desenvolvimento do florescimento do abacaxizeiro. O primeiro ocorre após a diferenciação floral e corresponde à parada do crescimento do caule até a abertura das primeiras flores e ao começo do crescimento da coroa. O outro corresponde à parada do desenvolvimento da coroa, que se dá muito próxima à colheita, no caso dos abacaxis para uso alimentar, o que provoca o murchamento da copa e uma grande translocação de açúcares para o fruto.

É exatamente essa fase que parece estar alterada no ORN-MUT, já que a coroa parece continuar a se desenvolver e apresentar o comportamento de uma nova planta. Como o florescimento é o resultado de uma complexa interação de aspectos genéticos, ambientais e fisiológicos são necessários estudos adicionais para a compreensão deste fenômeno em ORN-MUT.

**Tabela 1.** Fenologia do híbrido miniaturizado ORN-MUT de abacaxizeiro ornamental no primeiro ciclo de produção e no ciclo recorrente. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

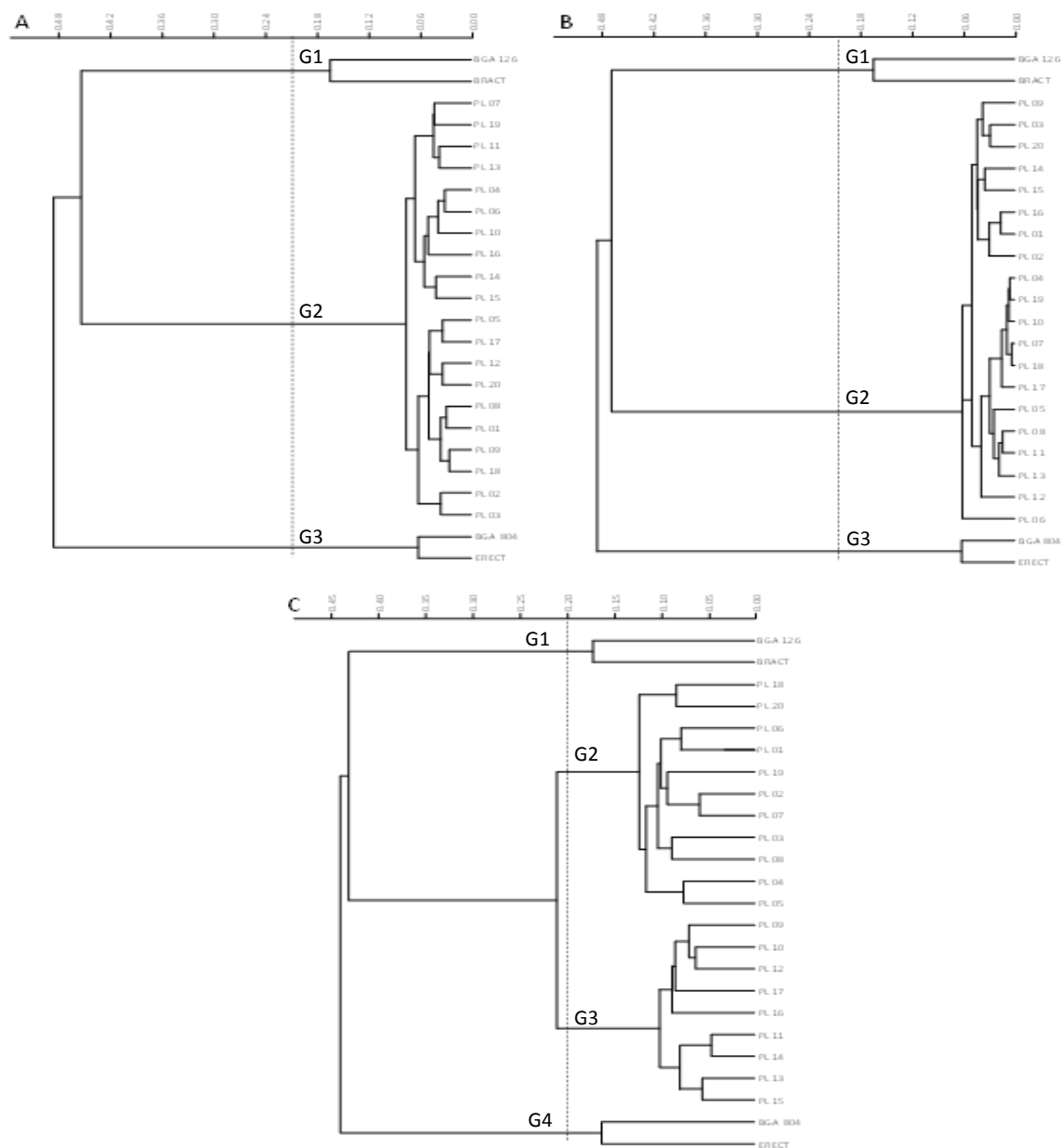
Fases fenológicas (dias)	Média ± Desvio padrão	CV (%)
<b>Florescimento da planta matriz</b>		
<b><i>Primeira repetição</i></b>		
Indução/emergência do botão	48,80 ± 5,11	10,46
Indução/primeira flor	66,20 ± 4,06	6,13
Indução/última flor	75,70 ± 8,01	10,59
Botão/primeira flor	17,40 ± 3,36	19,32
Botão/última flor	26,90 ± 5,97	22,20
Primeira flor/última flor	9,50 ± 4,89	51,51
Plantio/emergência do botão	418,80 ± 5,11	1,22
Plantio/primeira flor	436,20 ± 4,06	0,93
Plantio/última flor	445,70 ± 8,01	1,80
<b><i>Segunda repetição</i></b>		
Indução/emergência do botão	47,20 ± 3,09	6,54
Indução/primeira flor	62,90 ± 3,26	5,18
Indução/última flor	72,35 ± 6,17	8,52
Botão/primeira flor	15,70 ± 3,60	22,93
Botão/última flor	25,15 ± 6,75	26,82
Primeira flor/última flor	9,45 ± 3,41	36,09
Plantio/emergência do botão	417,20 ± 3,09	0,74
Plantio/primeira flor	432,90 ± 3,26	0,75
Plantio/última flor	442,35 ± 6,17	1,39
<b>Florescimento recorrente<sup>1</sup></b>		
<b><i>Primeira repetição</i></b>		
Indução <sup>2</sup> /emergência do botão secundário	170,60 ± 1,85	1,08
Indução/primeira flor	188,80 ± 0,41	0,22
Indução/última flor secundária	192,60 ± 0,82	0,43
Botão/primeira flor	18,20 ± 1,82	10,02
Botão/última flor	22,00 ± 1,89	8,60
Primeira flor/última flor	3,80 ± 0,41	10,80
Plantio/emergência do botão secundário	540,60 ± 1,85	0,34
Plantio/primeira flor	558,80 ± 0,41	0,07
Plantio/última flor secundária	562,60 ± 0,82	0,15

<sup>1</sup>Referente à nova inflorescência emitida na coroa da planta matriz.

<sup>2</sup>Indução realizada na planta-mãe.

A análise multicategórica dos dados realizada com o híbrido e seus parentais possibilitou a formação de três grupos no primeiro florescimento (Figura 2 A e B) e quatro grupos no florescimento recorrente (Figura 2 C) pelo método de

agrupamento UPGMA a partir da distância euclidiana média, utilizando como ponto de corte a média da matriz.



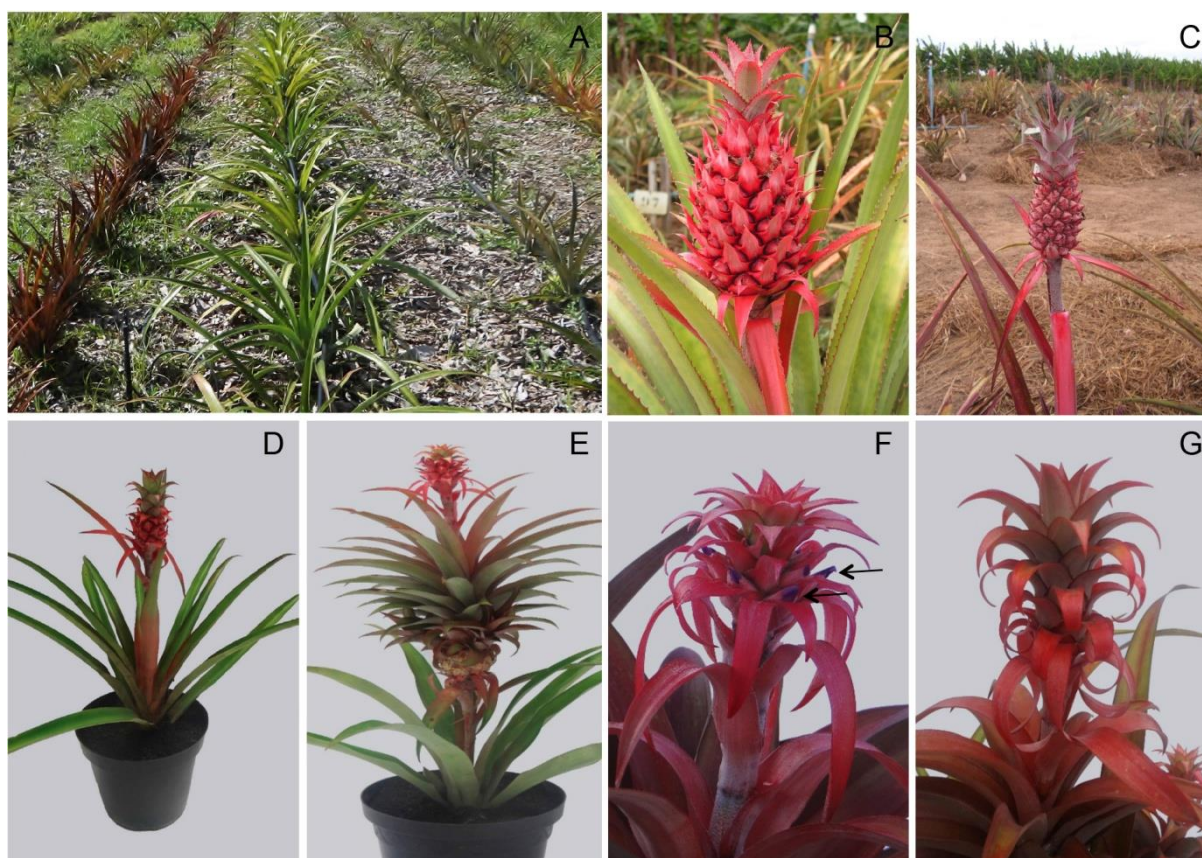
**Figura 2.** Dendrogramas de dissimilaridade genética entre o híbrido miniaturizado ORN-MUT e seus parentais masculino (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) e feminino (*A. comosus* var. *bracteatus*) de abacaxizeiros ornamentais no primeiro florescimento das duas repetições experimentais (A e B) e no florescimento recorrente (C), obtido pelo método UPGMA com base no algoritmo de Gower, a partir dos descritores qualitativos e quantitativos. A) Primeira repetição; B) Segunda repetição e C) Primeira repetição do florescimento recorrente. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

Os coeficientes de correlação cofenética do dendrograma para a primeira repetição ( $r = 0,8918$ ,  $P < 0,0001$ , 10.000 permutações), segunda repetição ( $r = 0,8926$ ,  $P < 0,0001$ , 10.000 permutações), primeira repetição do ciclo recorrente ( $r = 0,8738$ ,  $P < 0,0001$ , 10.000 permutações) demonstram um bom ajuste entre a representação gráfica das distâncias e a matriz original (ROHLF; FISHER, 1968). A correlação entre as matrizes da 1<sup>o</sup> e 2<sup>o</sup> repetição foi altamente significativa pelo teste  $t$  tanto no primeiro florescimento ( $t = 0,9132$ ) quanto no florescimento recorrente ( $t = 0,8386$ ).

Observou-se a formação de três grupos no florescimento da planta matriz, nas duas repetições. Os grupos G1 e G3 foram formados pelo parental feminino (*A. comosus* var. *bracteatus*) e parental masculino (*A. comosus* var. *erectifolius*), respectivamente, sendo considerados como cultivares referência neste trabalho. O grupo G2 foi formado pelos clones do híbrido ORN-MUT (Figura 2 A e B). No florescimento recorrente observaram-se quatro grupos. Os grupos G1 e G4 são formados pelos mesmos parentais, enquanto que os grupos G2 são clones do ORN-MUT com a presença de frutinhos no sincarpo e o G3 é constituído por plantas que desenvolveram apenas coroas e nenhuma formação de frutinhos no sincarpo em ambos os ciclos de produção. O florescimento recorrente não é homogêneo para essa característica morfológica, se dividindo em dois grupos distintos (Figura 2 C).

O *A. comosus* var. *bracteatus* (parental feminino) apresentou plantas grandes com altura média de  $98,20 \pm 12,33$  cm de comprimento e hábito de crescimento semiereto (Figura 3 B). Suas folhas esverdeadas (FAN3 146A) são longas ( $90,00 \pm 5,18$  cm) e largas ( $4,22 \pm 0,15$  cm) com presença de antocianina e espinhos de coloração diferente da lâmina foliar. Os pedúnculos retos e de tamanho médio possuem  $36,23 \pm 6,38$  cm de comprimento por  $1,97 \pm 0,22$  cm de diâmetro. Os sincarpes têm formato cônico cilíndrico de coloração vermelha (FAN1 46B) e comprimento médio de  $18,23 \pm 4,32$  cm por  $9,44 \pm 2,08$  cm de diâmetro. As brácteas vermelhas (FAN1 54B) e alongadas sobrepõem totalmente os frutinhos. As coroas são grandes, com comprimento de  $7,12 \pm 0,55$  cm por  $6,44 \pm 0,83$  cm de diâmetro. O formato do ápice da folha na coroa é acuminado, tendo espinhos nas suas bordas (Tabelas 2 e 4).

Essa variedade silvestre é muito utilizada no melhoramento genético de abacaxizeiros ornamentais devido à acentuada coloração dos seus frutos e a presença de brácteas grandes que recobrem os frutinhos, conferindo-lhe uma beleza marcante que pode ser herdada produzindo novos híbridos diferenciados. O uso direto como variedade ornamental no Brasil é incipiente e pontual, apenas em feiras do interior e na época do Natal. Como tem espinhos mais agressivos dificultando o seu manejo, tem sido cultivado em pequena escala como planta ornamental apenas para exportação (SOUZA et al., 2012). Essa presença de espinhos nas bordas das folhas tem conferido a este material um uso como cerca-viva (COPPENS D'EECKENBRUGGE; DUVAL, 2009).



**Figura 3.** A) Avaliação clonal em campo do ORN-MUT e seus parentais de abacaxizeiros ornamentais; B) parental feminino *Ananas comosus* var. *bracteatus*; C) parental masculino *A. comosus* var. *erectifolius*; D) Planta adulta do ORN-MUT no primeiro ciclo; E) florescimento recorrente e “nova planta” miniaturizada formada; F) sincarpo com frutinhos (seta indica a formação das flores); G) coroa sem frutinhos. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

O *A. comosus* var. *erectifolius* (parental masculino) diverge nas características morfológicas (Figura 3 C) em relação ao parental feminino. O genótipo apresenta hábito de crescimento ereto e altura média de  $79,14 \pm 6,15$  cm. As folhas roxo-acinzentadas (FAN4 187A) sem espinhos tem comprimento de  $71,45 \pm 4,25$  cm e largura de  $3,21 \pm 0,44$  cm. O pedúnculo é mais longo e fino com  $40,80 \pm 1,32$  cm de comprimento e  $0,81 \pm 0,08$  cm de diâmetro. Os sincarpas são menores, com  $5,53 \pm 0,68$  cm de comprimento por  $5,49 \pm 0,33$  cm de diâmetro. A coloração da camada externa é roxo-avermelhada (FAN4 183B) com formato cônico e brácteas obtusas que sobrepõem parcialmente os frutinhos. A coroa vermelha (FAN1 184A) com ápice acuminado alargado é menor que o sincarpo tendo comprimento médio de  $4,12 \pm 0,87$  cm por  $4,05 \pm 0,44$  cm de diâmetro (Tabelas 2 e 4).

Essa variedade se destaca como ornamental por ter folhas rígidas e estreitas, eretas, de coloração púrpura, sem espinhos, frutos pequenos e hastes longas, sendo explorada na floricultura como flor de corte (CARVALHO et al., 2014). É um dos parentais mais utilizados em hibridações para a obtenção de genótipos ornamentais de abacaxi (SOUZA et al., 2016) e tem sido cultivada também visando o uso de suas fibras como reforço vegetal em compósitos poliméricos (SENA NETO et al., 2013; 2015).

As fibras vegetais extraídas a partir dessa variedade são consideradas substitutas à fibra de vidro na indústria automobilística e matéria prima na indústria têxtil por meio da confecção de cordas, redes e roupas (ERENO, 2004). Na fabricação de polímeros, diversos estudos têm comprovado que a interação da fibra de abacaxi como reforço em compósitos melhora as propriedades mecânicas do plástico, conferindo-lhe elasticidade, rigidez e resistência, permitindo ao mercado aderir a uma fonte renovável de baixa densidade, não abrasiva e biodegradável (CASTRO et al., 2013, BELTRAMI et al., 2014; ARAÚJO et al., 2015).

**Tabela 2.** Características morfológicas quantitativas dos parentais feminino (*Ananas comosus* var. *bracteatus*) e masculino (*A. comosus* var. *erectifolius*) do híbrido ORN-MUT de abacaxizeiros ornamentais após 12 meses de plantio. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

Variáveis (cm)	<i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i>		<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i>	
	1º Repetição	2º Repetição	1º Repetição	2º Repetição
Altura da planta	98,20±12,33	111,51±10,22	79,14±6,15	82,13±7,10
Comprimento da folha	90,00±5,18	94,40±4,65	71,45±4,25	70,22±5,13
Largura da folha	4,22±0,15	3,98±0,45	3,21±0,44	3,16±0,48
Comprimento do pedúnculo	36,23±6,38	38,22±4,45	40,80±1,32	42,53±1,59
Diâmetro do pedúnculo	1,97±0,22	1,95±0,22	0,81±0,08	0,83±0,12
Comprimento do sincarpo	18,23±4,32	17,75±3,25	5,53±0,68	6,30±0,55
Diâmetro do sincarpo	9,44±2,08	9,04±2,00	5,49±0,33	5,98±0,48
Comprimento da coroa	7,12±0,55	6,95±0,77	4,12±0,87	4,98±0,98
Diâmetro da coroa	6,44±0,83	6,55±0,44	4,05±0,44	4,15±0,23

O híbrido ORN-MUT (Figura 3 D) possui hábito de crescimento semiereto com altura de  $39,30 \pm 7,05$  cm. Suas folhas são esverdeadas (FAN3 138 A) curtas ( $56,30 \pm 10,08$  cm) e largas ( $4,30 \pm 0,70$  cm), sem espinhos, sem variação marginal e pouca pigmentação de antocianina. O pedúnculo é reto e curto com  $19,30 \pm 3,83$  cm de comprimento e  $1,60 \pm 0,30$  cm de diâmetro. Os sincarpes são pequenos ( $3,90 \pm 0,83$  cm de comprimento e  $3,50 \pm 0,40$  cm de diâmetro) e possuem coloração rosada (FAN1 51B) de formato cônico cilíndrico. As brácteas agudas encobrem totalmente os frutinhos, semelhante ao parental feminino (*A. comosus* var. *bracteatus*). A coroa possui ápice moderadamente agudo com coloração central esverdeada (FAN3 138 A) e bordas rosadas (FAN1 51B).

Comparando-se as características de ORN-MUT com seus parentais é possível entender porque foi um dos híbridos selecionados para planta de vaso. Possui um porte significativamente menor, um hábito de crescimento semiereto com uma copa compacta, características que são necessárias para atender aos padrões do mercado de plantas envasadas.

No florescimento recorrente (Figura 3 E), as plantas são ainda menores com altura média de  $24,45 \pm 2,52$  cm e o aspecto compacto é ainda mais consolidado.

O pedúnculo rosado possui  $7,95 \pm 1,64$  cm de comprimento e  $1,05 \pm 0,06$  cm de diâmetro. Os sincarpas são miniaturizados apresentando, em média, de  $1,20 \pm 1,15$  camada de frutinhos e  $1,61 \pm 0,20$  cm de comprimento por  $2,14 \pm 0,35$  cm de diâmetro. Vale destacar que, nem todos os clones do florescimento recorrente apresentaram frutinhos. As coroas são menores que o sincarpo, exibindo um comprimento de  $1,58 \pm 0,40$  cm e diâmetro de  $1,74 \pm 0,21$  cm (Tabela 3 e 4).

A planta formada após o florescimento da coroa se configura em um produto de elevado interesse comercial, visto que é uma miniatura de um abacaxizeiro, com arquitetura extremamente compacta, o que seria impossível de se obter pelo ajuste em sistemas de produção. No entanto, na avaliação clonal do florescimento recorrente foi possível observar uma desuniformidade, principalmente, em relação à formação e tamanho do sincarpo. Dentre as 20 plantas avaliadas, 11 apresentaram sincarpo com 1 a 2 camadas de frutinhos (Figura 3 F) e nove formaram apenas uma nova coroa sem frutinhos (Figura 3 G). Essa variação e falta de homogeneidade não corresponde ao que foi avaliado para o híbrido antes do florescimento da coroa, deixando claro que estão implicados mecanismos desconhecidos que regulam a fenologia desta *segunda* planta. Esses estudos devem ser realizados juntamente com ajustes no sistema de produção.

O desenvolvimento do sincarpo em abacaxi está fortemente relacionado à maturação fisiológica da planta, no momento da indução floral. Plantas muito jovens, quando induzidas, formam sincarpas menores, pelo comprometimento da camada de frutinhos, formando frutos fora do padrão da variedade.

O ajuste desse estágio de maturação fisiológica dessa “segunda planta” será determinante para transformar o abacaxi miniaturizado em vaso em um produto comercializável.



**Tabela 3.** Análise descritiva para características morfológicas quantitativas de abacaxizeiro ornamental ORN-MUT após 12 meses de plantio. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

Variáveis (cm)	Média	Mínimo	Máximo	S <sup>1</sup>	CV (%)
<b>Florescimento da planta matriz</b>					
<i>Primeira repetição</i>					
Altura da planta	39,30	29,00	53,00	7,05	17,90
Comprimento da folha	56,30	36,00	69,00	10,08	17,91
Largura da folha	4,30	3,00	5,30	0,70	16,00
Comprimento do pedúnculo	19,30	10,00	24,00	3,83	19,80
Diâmetro do pedúnculo	1,60	1,10	2,00	0,30	17,00
Comprimento do sincarpo	3,90	2,00	5,40	0,83	21,10
Diâmetro do sincarpo	3,50	2,40	4,30	0,40	12,00
Número de camada de frutinhos <sup>2</sup>	3,74	3,00	5,00	0,73	19,63
Comprimento da coroa	4,10	2,50	5,90	0,90	23,00
Diâmetro da coroa	2,50	1,60	3,10	0,50	19,00
<i>Segunda repetição</i>					
Altura da planta	31,60	30,00	40,00	3,35	10,61
Comprimento da folha	47,90	40,00	60,00	5,24	11,00
Largura da folha	3,70	3,00	4,80	0,60	16,00
Comprimento do pedúnculo	16,50	12,00	21,00	2,50	15,00
Diâmetro do pedúnculo	1,50	1,10	1,90	0,24	15,60
Comprimento do sincarpo	4,10	3,00	5,60	0,55	13,50
Diâmetro do sincarpo	3,50	2,90	4,10	0,33	9,47
Número de camada de frutinhos <sup>2</sup>	3,37	3,00	5,00	0,60	17,73
Comprimento da coroa	4,20	2,60	6,00	0,78	18,50
Diâmetro da coroa	2,60	2,00	2,90	0,24	9,22
<b>Florescimento recorrente<sup>3</sup></b>					
<i>Primeira repetição</i>					
Altura da coroa <sup>4</sup>	24,45	20,00	29,00	2,52	10,32
Número de folhas na coroa	30,00	25,00	35,00	3,24	10,81
Comprimento do pedúnculo	7,95	5,00	10,00	1,64	20,60
Diâmetro do pedúnculo	1,05	1,00	1,20	0,06	5,78
Comprimento do sincarpo	1,61	1,30	2,00	0,20	12,26
Diâmetro do sincarpo	2,14	1,80	2,80	0,35	16,25
Número de camada de frutinhos <sup>2</sup>	1,20	0,00	3,00	1,15	95,97
Comprimento da coroa recorrente	1,58	1,00	2,10	0,40	25,64
Diâmetro da coroa recorrente	1,74	1,50	2,20	0,21	12,01
Número de folhas na coroa recorrente	28,00	25,00	30,00	2,15	7,69

<sup>1</sup>Referente ao desvio-padrão.

<sup>2</sup>Número de camadas de frutinhos contado horizontalmente no fruto da planta-mãe e no fruto secundário.

<sup>3</sup>Referente à nova inflorescência emitida na coroa do fruto da planta-mãe.

<sup>4</sup>Corresponde à variável "altura da planta" avaliada sobre a planta principal.

**Tabela 4.** Características morfológicas qualitativas de ORN-MUT e seus parentais de abacaxizeiros ornamentais. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

Descritor <sup>1</sup>	ORN-MUT	ORN-MUT/recorrente <sup>2</sup>	<i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i>
Hábito de crescimento	Semiereto	Semiereto	Semiereto	Ereto
Variagem da folha	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Distribuição da variegação	-	-	-	-
Coloração principal na face superior da folha	Verde FAN3 138 A	Verde FAN3 138 A	Verde FAN3 146A	Roxo-acinzentado FAN4 187A
Pigmento de antocianina na folha	Presente	Presente	Presente	Presente
Espinho nas folhas	Ausente	Ausente	Presente	Ausente
Cor dos espinhos foliares	-	-	Diferente	-
Ondulação das bordas do limbo	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Forma do pedúnculo	Reto	Reto	Reto	Reto
Coloração externa da casca do sincarpo	Rosado FAN1 51B	Rosado FAN1 51B	Vermelho FAN1 46B	Roxo-avermelhado FAN4 183B
Forma do sincarpo	Cônica cilíndrica	Cônica cilíndrica	Cônica cilíndrica	Cônica
Forma do ápice das brácteas dos frutinhos	Agudo	Agudo	Agudo	Obtuso
Sobreposição brácteas em relação ao frutinho	Total	Total	Total	Parcial
Coloração das brácteas do frutinho	Rosado FAN1 51B	Rosado FAN1 51B	Vermelho FAN1 54B	Vermelho FAN1 51B
Brácteas na base da coroa	Presente	-	Ausente	Ausente
Cor das brácteas na base em relação à coroa	Diferente	-	-	-
Coloração das brácteas da coroa	Rosado FAN1 51B	-	Vermelho FAN1 52B	Vermelho FAN1 184A

Relação comprimento da coroa/ comprimento do sincarpo <sup>3</sup>	Alta	Alta	Alta	Baixa
Relação diâmetro da coroa/ diâmetro do sincarpo <sup>3</sup>	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa
Número de cores da coroa	Duas	Duas	Duas	Duas
Formato do ápice da folha da coroa	Moderadamente aguda	Moderadamente aguda	Acuminada	Acuminada alargada

<sup>1</sup> Descritores desenvolvidos para execução de ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares. Publicado no Diário Oficial da União nº 2 de 03 de janeiro de 2013, seção 01, páginas 4 e 5 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

<sup>2</sup> Referente a nova inflorescência emitida na coroa do fruto formado na planta-mãe.

<sup>3</sup>Relação de comprimento e diâmetro entre a coroa e o sincarpo. Alta: coroa maior que o sincarpo; média: coroa igual a sincarpo; baixa: coroa menor que o sincarpo.

Pode-se verificar que coroas maiores geravam um sincarpo com maior número de frutinhos, enquanto em coroas pequenas os frutinhos estavam ausentes ou apresentavam tamanho muito reduzido. Vale destacar que o florescimento recorrente ocorreu de forma natural, sem indução floral, o que torna ainda mais complexo o entendimento do que determina a presença e tamanho dos sincarpes.

Esse trabalho não abordou a mutação que causou esse evento que foi denominado florescimento recorrente, ainda sem registro na literatura. Segundo Chan et al. (2003), trinta grandes mutações já foram registradas para a variedade comercial Smooth Cayenne, entretanto nenhuma tem similaridade com o fenômeno observado na variedade ornamental. As principais diferenças morfológicas resultantes das mutações mencionadas ocorreram a partir da observação de flores brancas no sincarpo em oposição às flores roxas, típicas da espécie. A proliferação de flores no limbo foliar, presença de múltiplas sépalas e brácteas, aumento ou diminuição da densidade de tricomas, várias coroas, frutos deformados ou com menor diâmetro, espinhos foliares, níveis de clorofila ou antocianina reduzidos, hábito anão, frutas translúcidas, entre outras.

As características morfológicas do ORN-MUT, bem como o apelo ornamental e a sua distinção em relação às cultivares comercializadas, o torna um produto original e de alto valor agregado para o mercado da floricultura e de plantas ornamentais que é altamente exigente por novidades.

## **CONCLUSÃO**

O híbrido de abacaxizeiro ornamental ORN-MUT mostrou-se distinto dos parentais (cultivares referências) e apresentou plantas uniformes apenas no florescimento da planta matriz.

As plantas formadas após o florescimento recorrente apresentaram uma desuniformidade em relação ao desenvolvimento do sincarpo, com ausência de frutinhos em alguns clones, além de uma variação na época de início do florescimento.

## REFERÊNCIAS

ARAUJO, M. A. M.; SENA NETO, A. R.; HAGE JUNIOR, E.; MATTOSO, L. H. C.; MARCONCINI, J. M. Curaua leaf (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) reinforcing poly (lactic acid) biocomposites: formulation and performance. **Polymer Composites**, Hoboken, v. 36, n. 8, p. 1520-1530, 2015.

BELTRAMI, L. V. R.; SCIENZA, L. C.; ZATTERA, A. J. Efeito do tratamento alcalino de fibras de curauá sobre as propriedades de compósitos de matriz biodegradável. **Polímeros**, São Carlos, v. 24, n. 3, p. 388-394, 2014.

BRASIL. Ato nº 2, de 2 de janeiro de 2013. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 03 janeiro, 2013. Seção1, p 4.

CARVALHO, A. C. P. P.; SOUZA, F. V. D.; SOUZA, E. H. **Produção de abacaxizeiro ornamental para flor de corte**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria (Documentos 169), 2014, 44 p.

CASTRO, D. O.; FROLLINI, E.; MARINI, J.; RUVOLO-FILHO, A. Preparação e caracterização de biocompósitos baseados em fibra de curauá, biopolietileno de alta densidade (BPEAD) e polibutadieno líquido hidroxilado (PBHL). **Polímeros**, São Carlos, v. 23, n. 1, p. 65-73, 2013.

CHAN, Y. K.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, C.; SANEWKI, G. M. **Breeding and variety improvement**. In: BARTHOLOMEW, D. P.; PAULL, R. E.; ROHRBACH, K. G. *The pineapple: botany, production and uses*. Wallingford: CABI Publishing, 2003, p. 33-55.

COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; DUVAL, M. F. The domestications of pineapple: context and hypotheses. **Pineapple News**, Hawaii, n. 16, p. 15–26, 2009.

CRESTANI, M.; BARBIERI, R. L.; HAWERROTH, F. J.; CARVALHO, D. I. F.; OLIVEIRA, A. C. Das Américas para o Mundo - origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p.1473- 1483, 2010.

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

ERENO, D. Fibra para toda obra: folhas secas de curauá têm amplo uso, de peças de carros até roupas e medicamentos. **Pesquisa FAPESP**, São Paulo, v. 104, n.10, p. 70-75, 2004.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, Arlington, v. 27, p. 857-874, 1971.

KÖPPEN, W. **Das seographische system der climate**. In: KOPPEN, W.; GEIGER, R. Handbuch der klimatologie, Berlin: Gebfrider Borntraeger, 1936, v. 1, Part C.

PALMA-SILVA, C.; LEAL, B. S. S.; CHAVES, C. J. N.; FAY, M. F. Advances in and perspectives on evolution in Bromeliaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 181, n. 3, p. 305-322, 2016.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2006.

RODRIGUES, M. A.; KERBAUY, G. B. Meristemas: fontes de juventude e plasticidade no desenvolvimento vegetal. **Hoehnea**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 525-549, 2009.

ROHLF, F. J.; FISHER, D. R. Tests for Hierarchical structure in Random Data Sets. **Systematic Zoology**, Oxford, v. 17, p. 407-412, 1968.

SAS Institute. SAS/STATs 9.22 User's Guide, Cary, North Carolina: **SAS Institute**, 2010.

SENA NETO, A. R.; ARAUJO, M. A. M.; BARBOZA, R. M. P.; FONSECA, A. S.; TONOLI, G. H. D.; SOUZA, F. V. D.; MATTOSO, L. H. C. ; MARCONCINI, J. M. Comparative study of 12 pineapple leaf fiber varieties for use as mechanical reinforcement in polymer composites. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 64, p. 68-78, 2015.

SENA NETO, A. R.; ARAUJO, M. A.; SOUZA, F. V.; MATTOSO, L. H.; MARCONCINI, J. M. Characterization and comparative evaluation of termal, structural, chemical, mechanical and morphological properties of six pineapple leaf

fiber varieties for use in composites. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 43, p. 529- 537, 2013.

SILVA, B. F. B.; SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D. Fenologia de um mutante floral de abacaxizeiro ornamental. In: JORNADA CIENTÍFICA- EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA, 10.,2016, Cruz das Almas. **Anais...**, Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, Utrecht, v.11, p.33-40, 1962.

SOUZA, E. H.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, F. V. D. Seleção e recomendação de uso de híbridos ornamentais de abacaxi. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 45, n. 2, p. 409- 416, 2014.

SOUZA, E. H.; ROSA, S. S.; SOUZA, F. V. D.; MELO, V. C. Indução floral em *Neoregelia carolinae* (Beer) L. B. Sm e *Aechmea fasciata* (Lindley) Baker, (Bromeliaceae). **Magistra**, Cruz das Almas, v. 21, n. 4, p. 305-310, 2009.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; COSTA JUNIOR, D. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; LEDO, C. A. S. Genetic variation of the *Ananas* genus with ornamental potential. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Netherlands, v. 59, p. 1357-1476, 2012.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, E. H.; SANTOS-SEREJO, J. A.; PEREIRA, M. E. C. BRS Boyrá e BRS Anauê: cultivares de abacaxizeiros ornamentais destinados para flor de corte, paisagismo e minifrutos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 24., 2016, São Luís. **Anais...**, São Luís: Hotel Luzeiros, 2016.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 30, n. 12, p. 2725-2729, 2013.

TANIGUCHI, C. A. K.; CASTRO, A. C. R.; SILVA, T. F.; CAFÉ, F. B. S. Development of pineapple as an ornamental potted plant. **Acta Horticulturae**, Belgium, v. 1087, p. 379-384, 2015.



VAZ, A. P. A.; SANTOS, H. P.; Z AidAN, L. P. Floração. In: KERBAUY. G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2004. p. 366- 385.

## **CAPÍTULO 2**

### **ESTRATÉGIAS DE PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E LIMPEZA VIRAL DE HÍBRIDO ORNAMENTAL DE ABACAXI<sup>1</sup>**

---

<sup>1</sup>Capítulo a ser submetido ao comitê editorial do periódico Euphytica

## ESTRATÉGIAS DE PROPAGAÇÃO VEGETATIVA E LIMPEZA VIRAL DE HÍBRIDO ORNAMENTAL DE ABACAXI

Autora: Bruna de Fátima Batista da Silva

Orientadora: Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza

Coorientador: Dr. Everton Hilo de Souza

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi determinar o melhor método de propagação do abacaxizeiro ornamental ORN-MUT e a produção de mudas livres de vírus, pela remoção do complexo viral (PMWaV). Foram avaliados quatro métodos de propagação vegetativa (convencional, seccionamento do talo, micropropagação e estiolamento dos segmentos nodais). Avaliou-se o período de tempo necessário para cada técnica estudada e o número de plantas formadas. Foi realizado o cultivo de ápices caulinares (0,5 mm) e a indexação para os três tipos virais do PMWaV em sete plantas *in vitro* e o controle de campo. A propagação convencional demonstrou uma capacidade de perfilhamento de 17 mudas por planta em um período de 566 dias ( $\cong$ 19 meses). O seccionamento do talo, resultou em uma média de 2,3 mudas por caule e um total de 47 mudas em um período de 591 dias ( $\cong$ 20 meses). Na propagação *in vitro*, o método convencional de micropropagação proporcionou 1.284 plantas após os quatro subcultivos realizados em intervalos de 45 dias, estando essas, aptas ao cultivo em campo após 778 dias ( $\cong$ 26 meses). As hastes estioladas por 60 dias tiveram seu pico de produção no segundo subcultivo com 1.224 plantas. Este método, necessitou de 883 dias ( $\cong$ 29 meses) para se obter plantas com tamanho ideal ao campo. Já as hastes estioladas com 120 dias produziram 935 plantas ao final dos quatro subcultivos, com o pico de produção no terceiro subcultivo, estando essas aptas ao cultivo em campo após 943 dias ( $\cong$ 31 meses). Considerou-se a micropropagação convencional e o estiolamento com período de 60 dias, como os melhores métodos para produção de mudas do ORN-MUT. O cultivo de ápices caulinares é uma estratégia eficiente para promover a limpeza do complexo viral PMWaV e propiciar a obtenção de matrizes sadias.

**Palavras-chave:** *Ananas comosus* (L.) Merrill; estiolamento dos segmentos nodais; indexação; micropropagação convencional; propagação convencional; seccionamento do talo

## VEGETATIVE PROPAGATION STRATEGIES AND VIRAL FREE PLANTS OF THE PINEAPPLE ORNAMENTAL HYBRID ORN-MUT

Author: Bruna de Fátima Batista da Silva

Advisor: Dr. Fernanda Vidigal Duarte Souza

Co-Advisor: Dr. Everton Hilo de Souza

**ABSTRACT:** This work aimed to determine the most efficient propagation method to the ornamental pineapple ORN-MUT and the production of virus-free seedlings by removal of the viral complex (PMWaV). Four methods of vegetative propagation, Conventional, Sectioning of stem, Conventional micropropagation and Micropropagation by ethiolation of the nodal segments were evaluated. The period of time required for each technique and the number of plants obtained were evaluated. Cultivation of shoot apical meristems (0.5 mm) and indexation for the three viral types of PMWaV were carried out in seven *in vitro* plants and also in plants from the field as a control. Conventional propagation showed a production of 17 seedlings per plant in a period of 566 days ( $\cong$ 19 months). The production of seedlings from the sectioning of the stem resulted in an average of 2.3 seedlings per stem and a total of 47 seedlings in a period of 591 days ( $\cong$ 20 months). Regarding to *in vitro* propagation techniques, the conventional micropropagation method provided 1,284 plants after four subcultures carried out at 45 day intervals, which were suitable for field cultivation after 778 days ( $\cong$ 26 months). The micropropagation from ethiolated stems for 60 days had their peak of production in the second subculture with the obtaining of 1,224 plants. This method required 883 days ( $\cong$ 29 months) to obtain plants to the field. The plants ethiolated for 120 days resulted in 935 plants at the end of the four subcultures, with the peak of production in the third subculture, with the seedlings suitable for the field after 943 days ( $\cong$ 31 months). Conventional micropropagation and a 60-day period ethiolation were considered the best methods for ORN-MUT seedlings production. The cultivation of shoot apices is an efficient strategy to promote the cleaning of the viral complex PMWaV and to provide the production of healthy matrices

**Key words:** *Ananas comosus* (L.) Merrill; nodal segments; virus free plants; conventional micropropagation; conventional propagation; sectioning of the stem

## INTRODUÇÃO

O abacaxizeiro ornamental é comercializado no mercado nacional de flores e exportado para outros países como a Holanda, Alemanha, Portugal e Estados Unidos (CARVALHO et al., 2005). As principais variedades ofertadas para fins ornamentais são o *Ananas comosus* var. *erectifolius*, *A. comosus* var. *bracteatus* e *A. comosus* var. *ananassoides* que apresentam frutos pequenos e coloridos com uma beleza única, exuberante e atrativa aos olhares dos consumidores e compõem arranjos florais na decoração de ambientes variados, seja em vaso ou como flor de corte (SOUZA et al., 2007; CARVALHO et al., 2014).

O crescente interesse de consumidores pela espécie ornamental motivou pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura a desenvolver novos híbridos de abacaxizeiros que atendam as mais diversas categorias da floricultura (paisagismo, flores de corte, plantas de vaso, minifrutos, folhagem e cerca viva), possibilitando assim, a oferta de novidades para o mercado brasileiro (SOUZA et al., 2012a).

Dentre eles, um híbrido denominado ORN-MUT (*A. comosus* var. *bracteatus* X *A. comosus* var. *erectifolius*) apresenta características desejáveis para ser comercializado como planta de vaso. É de porte pequeno, possui, fruto de coloração rosada e atraente, ausência de espinhos e, principalmente, porque apresenta um florescimento recorrente sobre a coroa do fruto, formado após o ciclo completo da planta, que acaba por gerar uma planta de abacaxi miniaturizada. (SILVA et al., 2016a).

O plantio comercial deste genótipo ainda não foi estabelecido, pois é necessário um estudo que comprove a manutenção das suas características morfológicas e da sua capacidade de produção de mudas, bem como a sanidade adequada do material vegetal para a manutenção de matrizes livres de doenças.

O abacaxizeiro é propagado vegetativamente por meio de mudas extraídas de diferentes partes da planta-mãe (rebentão, filhote-rebentão, filhote e coroa) (REINHARDT; CUNHA, 2006). Além do perigo de disseminar pragas, a propagação do abacaxizeiro pelo método convencional é lenta e desuniforme e demanda um longo tempo para a implantação de uma nova área de plantio ou o lançamento de uma nova variedade (SOUZA et al., 2013).

Outros métodos de propagação vegetativa são conhecidos e podem melhorar a produção de mudas livres de doenças em menos tempo. Dentre as estratégias desenvolvidas para essa finalidade, o seccionamento do talo é considerado um método simples e eficiente e que permite a produção de plantas saudáveis a partir de brotações laterais oriundas de seções de caules cultivados em canteiros (REINHARDT et al., 2013). O uso dessa técnica é uma alternativa interessante para o agricultor que pode aumentar sua área de cultivo com mudas produzidas com um método simples e que não exige nenhuma infraestrutura específica ou onerosa.

Outra estratégia para produção de mudas de abacaxi é a micropropagação, técnica de cultura de tecidos, que é realizada a partir do cultivo de gemas axilares ou apicais em meio nutritivo suplementado com fitorreguladores, fontes de carbono, entre outros componentes, e em condições controladas e assépticas de laboratório. Essa técnica permite a obtenção de um número significativamente maior do que qualquer outra estratégia para produção de mudas de abacaxizeiro e pode ser de grande impacto no cultivo (TEIXEIRA et al., 2001; SOUZA et al., 2013).

Protocolos de micropropagação do abacaxizeiro vêm sendo desenvolvidos e ajustados desde o trabalho de Aghion e Beauchesne (1960). Uma série de estudos tem demonstrado o valor da técnica, tanto para os programas de melhoramento genético, quanto para a produção comercial de mudas (BARBOZA, 1999; GUERRA et al., 1999; ALBUQUERQUE et al., 2000; AYDIEH et al., 2000; FEUSER et al., 2001; TEIXEIRA et al., 2001; SOUZA et al., 2013).

Na Embrapa Mandioca e Fruticultura os primeiros trabalhos para ajuste de protocolos de micropropagação começaram a ser desenvolvidos no início dos anos 80, como suporte ao programa de melhoramento genético, permitindo a produção massiva de mudas dos clones selecionados e encurtando a etapa da avaliação dos novos híbridos. Atualmente, a técnica vem sendo usada de forma rotineira para os abacaxizeiros ornamentais e é a base também para a conservação *in vitro* de germoplasma de abacaxi (SILVA et al., 2016b).

No entanto, apesar da eficiência dessa técnica, devem ser tomadas precauções para se evitar a obtenção de plantas variantes e que não correspondem à planta matriz a ser multiplicada. Pelo fato dessas variações ocorrerem a partir de células somáticas, deu-se o nome de variação somaclonal e foi registrada pela primeira vez por Larkin e Scowcroft (1981).

Assim, alguns trabalhos vêm enfocando a utilização de um sistema de micropropagação a partir de segmentos nodais provenientes de plantas estioladas *in vitro* que parecem apresentar grande estabilidade genética. Este método foi desenvolvido por Kiss et al. (1995) para a produção de mudas de abacaxi *in vitro*, usando segmentos nodais estiolados e se baseia no alongamento do caule das plantas obtidas nas fases iniciais do cultivo *in vitro*, visando à produção de segmentos nodais com grandes quantidades de gemas.

O estiolamento é obtido a partir do cultivo de plantas *in vitro* em ausência de luz para promover o alongamento dos entrenós do caule garantindo a futura manipulação dos brotos regenerados (BARBOZA; CALDAS, 2001). As hastes estioladas, com seus entrenós são então subcultivadas em meios de multiplicação seguindo o procedimento da micropropagação convencional. No entanto, independentemente do método de propagação usado para a produção de mudas de qualquer genótipo de abacaxi, a sanidade da matriz a ser usada precisa ser garantida.

A murcha do abacaxizeiro, causada por um complexo viral (*Pineapple mealybug wilt associated virus*, PMWaV 1-3), transmitido pela cochonilha *Dysmicoccus brevipes* (SETHER et al., 2005), é uma doença que pode ocasionar grandes perdas econômicas nas principais regiões produtoras do Brasil e do mundo. Além dos danos diretos no vigor e produção da planta, os danos indiretos são preocupantes, pois em alguns casos as plantas contaminadas não apresentam sintomas, que só se manifestam quando a planta infectada pelo vírus também é colonizada pela cochonilha vetora (SETHER et al., 2002), dificultando a seleção de mudas no campo para o plantio.

O híbrido ORN-MUT demonstrou ser altamente susceptível à murcha do abacaxizeiro a partir da análise visual dos sintomas em campo, confirmada posteriormente por RT-PCR. O cultivo *in vitro* de ápices caulinares é uma estratégia que tem demonstrado eficácia na remoção e limpeza do complexo viral PMWaV em variedades de abacaxi (SILVA et al., 2014). De acordo com Souza et al. (2010a), estudando a cultivar BRS Ajubá, de uso alimentar, obtiveram resultados promissores a partir dessa técnica.

O presente estudo buscou avaliar e comparar diferentes métodos de propagação vegetativa para o híbrido miniaturizado de abacaxizeiro ornamental

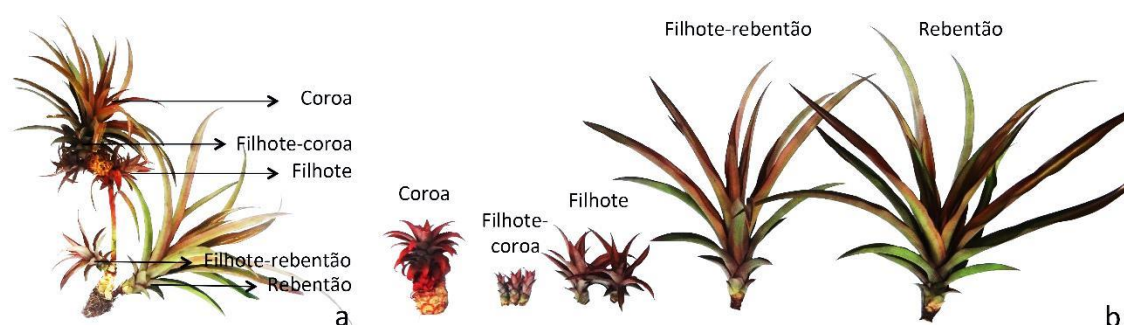
ORN-MUT, visando determinar o melhor método de produção de mudas, assim como realizar a remoção e limpeza do complexo viral (PMWaV) nas plantas cultivadas *in vitro* visando à produção de matrizes sadias.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados os seguintes métodos de propagação vegetativa do híbrido miniaturizado de abacaxizeiro ornamental ORN-MUT: propagação convencional, propagação por seccionamento do talo, micropropagação convencional e micropropagação por estiolamento. Para todos os métodos foram utilizadas 20 plantas ou gemas como ponto de partida para a etapa de multiplicação.

### *Propagação convencional*

Após a frutificação, as hastes com fruto permaneceram no campo por três meses, quando foram contabilizadas as mudas provenientes de rebentão, filhote-rebentão, filhote, coroas e filhotes-coroas, removendo-se do solo cada material vegetal e separando-os por tipo de muda (Figura 1), conforme descrito por Reinhardt e Cunha (2006). Para essa avaliação foram consideradas as duas etapas de florescimento, o da planta e o da coroa (florescimento recorrente).



**Figura 1.** Mudanças convencionais do híbrido de abacaxi ornamental ORN-MUT. A) Região da planta onde se encontra cada tipo de muda; B) Mudanças separadas por tipo e tamanho. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.



### *Seccionamento de talo*

As plantas para o seccionamento de talo foram utilizadas logo após a primeira frutificação sem considerar o florescimento recorrente. As mesmas foram removidas do campo e cuidadosamente eliminadas as raízes, o pedúnculo e as folhas com objetivo de expor o caule com as gemas. Na ocasião foi medido o comprimento e diâmetro dos talos que em seguida foram seccionados longitudinalmente, imersos em calda fungicida por cinco minutos e cultivados com substrato Vivato® em canteiros de produção de mudas de abacaxi. Após 40 dias de cultivo foram contabilizadas a emergência das mudas, que foram removidas quando atingiam a altura de 10 cm e repicadas para bandejas contendo o mesmo substrato em casa de vegetação.

Foram calculadas as seguintes estatísticas descritivas para os métodos de propagação convencional e seccionamento do talo: média, mínimo, máximo, desvio padrão e coeficiente de variação. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,01$ ), no caso de teste F significativo com auxílio do programa estatístico SAS (SAS Institute, 2010).

### *Micropropagação convencional*

Para o estabelecimento *in vitro* do híbrido foram usadas sete plantas retiradas do campo. Foram removidas as folhas do talo, que foi lavado com detergente comercial antes da excisão das gemas e sua posterior desinfestação em câmara de fluxo laminar sob condições assépticas.

A desinfestação consistiu no tratamento das gemas com solução de etanol a 70% (v/v) por 5 minutos, seguida por imersão em solução de hipoclorito de sódio com princípio ativo de 2,0 a 2,5%, contendo três gotas de detergente Tween® por litro, por 20 minutos, após três lavagens com água destilada. Após esse procedimento, as gemas foram reduzidas, retirando-se o excesso de tecidos e estabelecidas em tubos de ensaio contendo meio nutritivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com 3% de sacarose e solidificado com 2,4 g L<sup>-1</sup> de Phytigel® autoclavado a 120 °C por 20 minutos, com pH ajustado para 5,8. Os tubos permaneceram em sala de crescimento com condições controladas de temperatura 27 ± 1 °C, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 40 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Aos 45 dias, avaliou-se: o número total de gemas, porcentagem de

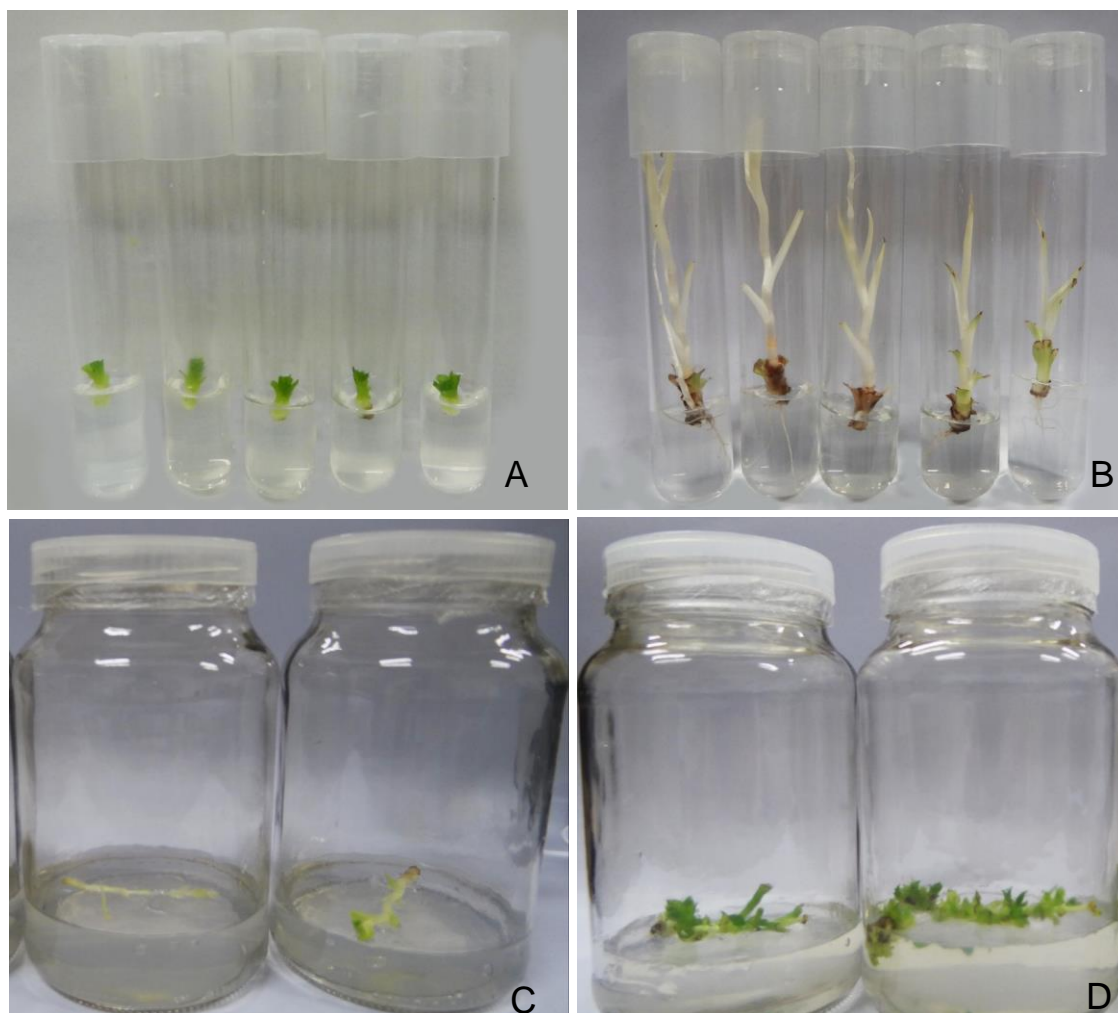
gemas contaminadas (%), porcentagem de gemas oxidadas (%) e a porcentagem de gemas sobreviventes (%).

Para dar início à produção de mudas por micropropagação convencional vinte plantas foram transferidas para meio de multiplicação, composto por sais e vitaminas MS suplementado com 3% de sacarose, 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, 0,2 mg L<sup>-1</sup> de ANA e solidificado com 2,4 g L<sup>-1</sup> de Phytigel®. Foram realizados quatro subcultivos sucessivos, em intervalo de 45 dias nas mesmas condições de incubação do estabelecimento, contabilizando-se a cada período, o número de brotos formados.

#### *Micropropagação por estiolamento dos segmentos nodais*

Foram considerados para esse trabalho dois tempos para o estiolamento das plantas, 60 e 120 dias de incubação na ausência de luz. Dessa forma, foi colocado para estiolar um total de 40 plantas.

Para tal, plantas *in vitro*, oriundas do quarto subcultivo da micropropagação convencional, tiveram suas folhas cortadas, reduzindo-se o tamanho para aproximadamente 2 cm. Essas plantas foram estabelecidas individualmente em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS suplementado com 3% de sacarose, 1,0 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> e solidificado com 2,4 g L<sup>-1</sup> de Phytigel®, com o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 120°C por 20 minutos (SOUZA et al., 2010b). Os tubos de ensaio foram transferidos para sala de crescimento a 27 ± 1 °C e mantidos no escuro por 60 e 120 dias, sendo que para cada período foram usadas 20 repetições como destacado anteriormente. Ao final de cada período de estiolamento, avaliou-se o comprimento da haste (cm) e o número de entrenós. Para o ensaio de multiplicação, as raízes foram removidas, bem como o ápice caulinar foi retirado, objetivando a quebra da dominância apical para indução de brotações axilares. Em seguida, os talos estiolados foram transferidos inteiros para frascos (13 cm de altura x 13 cm de diâmetro) contendo o mesmo meio de multiplicação já descrito para a micropropagação convencional. As plantas foram mantidas também nas mesmas condições de incubação em câmara de crescimento. Foram realizados quatro subcultivos sucessivos, em intervalo de 45 dias, avaliando-se a cada período o número de brotações formadas (Figura 2).



**Figura 2.** Etapas de propagação *in vitro* por estiolamento dos segmentos nodais. A) Remoção das folhas das plantas micropropagadas; B) Plantas estioladas; C) Haste estiolada individualizada no meio de multiplicação; D) Brotações ao longo da haste estiolada.

O potencial propagativo dos métodos *in vitro* foi medido por meio da taxa de crescimento geométrico (TCG) entre dois subcultivos sucessivos e entre o primeiro e último subcultivo, dado pela expressão:

$$TCG = \sqrt[t]{V_f/V_i} - 1 \times 100$$

Onde:

TCG é a taxa de crescimento geométrico;

$V_f$  é o número de plantas no final de cada subcultivo;

$V_i$  é o número de plantas no início de cada subcultivo;

t é o tempo entre os subcultivos, em dias.

Para os dados do número de brotos foi ajustado um modelo log-linear de Poisson, considerando o número de brotos como variável dependente e os subcultivos como variáveis independentes, para cada um dos métodos de propagação *in vitro* estudados (micropropagação convencional, micropropagação por estiolamento em 60 dias e em 120 dias). Os dados foram analisados utilizando o software Statistica 7.0 (STATSOFT, 2005).

#### *Indexação para o vírus da murcha (PMWaV) e cultivo de ápices caulinares*

O cultivo de ápices caulinares para a remoção e limpeza do vírus da murcha do abacaxizeiro PMWaV (*Pineapple mealybug wilt-associated virus*) foi realizado com dez plantas oriundas da micropropagação. Foram excisados ápices caulinares com tamanho máximo de 0,5 mm e cultivados em tubos de ensaio (1 ápice por tubo), contendo 5 mL de meio de cultura MS suplementado com 3% de sacarose e solidificado com 2,4 g L<sup>-1</sup> de Phytigel®, com o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 120 °C por 20 minutos. Os tubos de ensaio foram transferidos para sala de crescimento a 27 ± 1 °C, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 40 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Os ápices permaneceram em cultivo por 180 dias para a emergência e crescimento das plantas, verificando-se o tamanho ideal que permitisse a retirada das folhas para a indexação. Observou-se o número de ápices sobreviventes e o número de ápices mortos.

#### *Extração do RNA total*

A extração do RNA total foi realizada conforme metodologia descrita por Gambino et al. (2008). Aproximadamente 1,0 mL de tecido foliar foi macerado com nitrogênio líquido e transferido para microtubos de 2,0 mL. Foram acrescentadas as amostras, 800 μL da solução tampão de extração (CTAB 2,0%, NaCl 2,0 mol L<sup>-1</sup>, Tris-HCl 100 mmol L<sup>-1</sup> pH 8,0, EDTA 25 mmol L<sup>-1</sup>, PVP-40 2,5% e β-mercaptoetanol 2,0%), que foram preaquecidas em banho maria a 65°C e

homogeneizadas em vortex. Após o procedimento adicionou-se 800  $\mu\text{L}$  de clorofórmio e álcool isoamílico (24:1), e procedeu-se uma centrifugação a 11.000 x g por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi transferido para microtubos de 1,5 mL, adicionado de 1,5 mL de cloreto de lítio ( $\text{LiCl}$  3 mol  $\text{L}^{-1}$ ). As amostras foram incubadas em banho de gelo por 30 minutos e posteriormente centrifugadas a 21.000 x g por 20 minutos a 4 °C. Ao precipitado foi adicionado 500  $\mu\text{L}$  de SSTE (Tris-HCl 10 mmol  $\text{L}^{-1}$  pH 8,0, EDTA 1,0 mmol  $\text{L}^{-1}$ , SDS 1,0% e NaCl 1,0 mol  $\text{L}^{-1}$ ) e 500  $\mu\text{L}$  de clorofórmio e álcool isoamílico (24:1) que foi homogeneizado e centrifugado a 11.000 x g por 10 minutos a 4 °C. O RNA total foi precipitado com 0,7 volumes de isopropanol gelado e centrifugado imediatamente a 21.000 x g por 15 minutos a 4 °C. Em seguida foi lavado com etanol 70% estéril e centrifugado a 13.000 rpm por 10 minutos. As amostras obtidas foram transferidas para estufa a 37 °C por 15 minutos e ressuspensas em água deionizada estéril DEPC (dietilpirocarbonato).

*Detecção dos tipos de PMWaV por RT-PCR (Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase)*

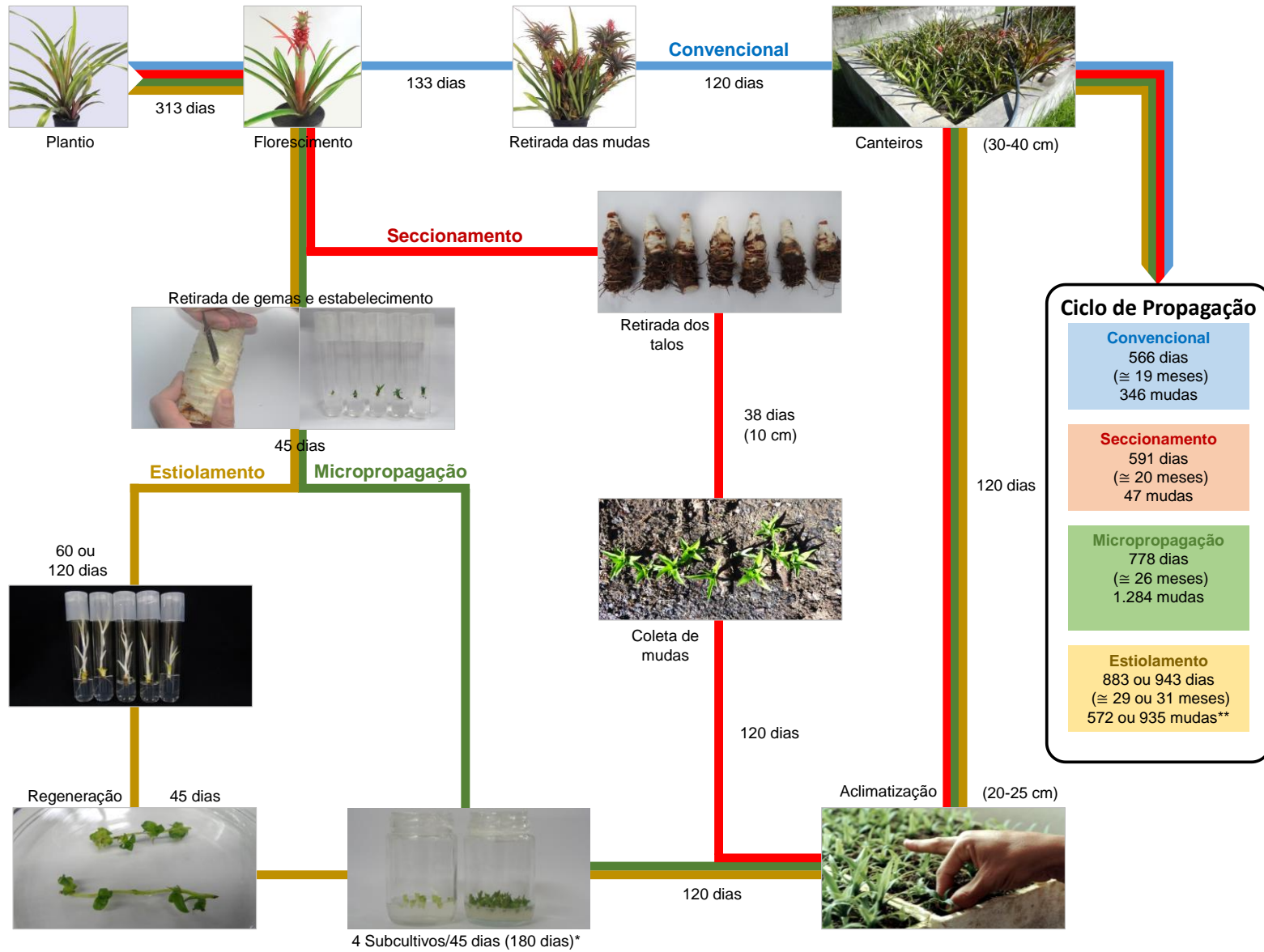
A transcrição reversa (RT) consistiu de duas etapas consecutivas. Durante a primeira etapa foi realizada a síntese do DNA complementar (cDNA). Foram adicionados em microtubos de PCR de 50  $\mu\text{L}$ : 1,0  $\mu\text{L}$  de dNTP's 10 mmol  $\text{L}^{-1}$ ; 1,0  $\mu\text{L}$  de *Primer* Randômico (*Random Hexamere 6bp*); 1,0  $\mu\text{L}$  de *Primer* PMWaV-1 R; 1,0  $\mu\text{L}$  de *Primer* PMWaV-2 R; 1,0  $\mu\text{L}$  de *Primer* PMWaV-3 R; 4,0  $\mu\text{L}$  de RNA molde e 1,0  $\mu\text{L}$  de água deionizada estéril. A mistura foi incubada a 70 °C por 10 minutos em termociclador, seguido de 4 °C por 2 minutos. Acrescentou-se 2,0  $\mu\text{L}$  de Tampão M-MLV 10x; 0,5  $\mu\text{L}$  de RNase Out®; 6,5  $\mu\text{L}$  de água deionizada estéril e 1,0  $\mu\text{L}$  de enzima M-MLV *Reverse Transcriptase*, obtendo-se um volume total de reação de 20  $\mu\text{L}$ . A mistura final foi incubada a 37 °C por 50 minutos no termociclador, seguidos por 10 minutos a 80 °C para a inativação da enzima. Na segunda etapa foram adicionados ao microtubo: 3,0  $\mu\text{L}$  do cDNA recém-sintetizado; 1,0  $\mu\text{L}$  de *Primer* F 10 nmol; 1,0  $\mu\text{L}$  de *Primer* R 10 nmol; 1,0  $\mu\text{L}$  de dNTP's 2,5 mmol  $\text{L}^{-1}$ ; 2,5  $\mu\text{L}$  de Tampão 10x da enzima *Taq* Polimerase; 1,5  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  50

mmol L<sup>-1</sup>; 14,8 µL de água deionizada estéril e 0,2 µL de *Taq* Polimerase 5 U µL<sup>-1</sup>. Obtendo-se um volume de reação de 25 µL.

Para cada amostra foram preparados três tubos de reação, sendo o primeiro disposto com *primers* específicos para PMWaV-1, o segundo para PMWaV-2 e o terceiro para PMWaV-3. O processo de amplificação (PCR- *Polymerase Chain Reaction*) consistiu de uma desnaturação inicial a 94 °C por 4 minutos, seguida de 38 ciclos que envolvem as etapas sequenciais de desnaturação (94 °C/ 45''), anelamento dos *primers* (48 °C/ 40'') e extensão (72 °C/ 1'30''). O resultado da RT-PCR foi obtido a partir da eletroforese em gel de agarose 1,5%, em tampão TBE, a 80V por pelo menos 2h 30min e revelado em transiluminador. Destaca-se, que o laboratório de cultura de tecidos vegetais já possui o controle positivo e negativo para cada cepa viral pesquisada. Entretanto, neste trabalho utilizou-se também uma amostra de planta cultivada em campo, a fim de confirmar a existência do vírus.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças significativas entre o número de mudas produzidas e o tempo (em dias) para obtenção de mudas por meio dos diferentes métodos de propagação. Um esquema, resumindo as principais etapas de cada método, o número de mudas obtido, assim como o tempo (em dias) de cada sistema pode ser observado na Figura 3. Cada método está representado por uma cor. O número de dias apresentado para os métodos de propagação *in vitro* no esquema considera o ciclo completo da planta principal (sem o florescimento recorrente) e não apenas a etapa de multiplicação.



**Figura 3.** Ciclo de produção, número de dias e quantidade de mudas produzidas nos diferentes métodos de propagação de abacaxizeiro ornamental miniaturizado ORN-MUT. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017. Propagação convencional (linha azul); Seccionamento do talo (linha vermelha); Micropropagação convencional (linha verde); Estiolamento dos segmentos nodais (linha amarela). \* Quatro subcultivos realizados em intervalos de 45 dias,

### Propagação Convencional

Na propagação convencional (linha vermelha) foram obtidas, em média, 17 mudas por planta em um período de 566 dias ( $\cong$ 19 meses). Durante esse tempo, as mudas permaneceram em canteiros até que atingissem a altura de 40 cm, adequado para o cultivo em campo. Vale ressaltar a dificuldade para se obter mudas uniformes no método convencional, haja vista que são oriundas de diferentes partes da planta-mãe. A maioria das mudas obtidas foram do tipo filhote-rebentão, seguido de filhote-coroa (Tabela 1).

Avaliar o potencial de propagação do híbrido ORN-MUT pelo modo convencional é importante para conhecer a capacidade de perfilhamento e a disponibilidade das mudas nessa variedade ornamental, buscando selecionar as mais desenvolvidas, vigorosas e sadias para o plantio em campo.

**Tabela 1.** Número de mudas obtidas por planta na propagação convencional do híbrido miniaturizado de abacaxizeiro ornamental ORN-MUT. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

Tipos de muda/planta	Média*	Mínimo	Máximo	S**
Rebentão	0,70 d	0,00	3,00	0,86
Filhote-rebentão	6,40 a	2,00	12,00	3,03
Filhote	2,15 cd	0,00	9,00	2,92
Coroa	2,75 bc	1,00	5,00	1,16
Filhote-coroa	5,30 ab	0,00	11,00	3,01
Média	3,46			
CV (%)	51,02			

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade ( $p < 0,01$ ).

\*\* Referente ao desvio-padrão

De um modo geral, as mudas tipo filhote são escolhidas com mais frequência, pois são de fácil colheita, apresentam vigor e ciclo de cultivo intermediário entre coroa e rebentão. As mudas do tipo rebentão, apesar de serem mais desenvolvidos, com ciclo de produção mais curto e floração natural precoce, possuem baixa disponibilidade e dificuldade de remoção da planta, além da



desuniformidade de tamanho e peso. As mudas tipo filhote-rebentão tem baixa disponibilidade, sendo pouco utilizadas em cultivos comerciais. As coroas, por sua vez, possuem tamanho e peso mais uniformes, porém tem menor vigor e ciclo mais longo do plantio a colheita, sendo utilizadas apenas em regiões onde o fruto é industrializado (REINHARDT et al., 2000; MATOS et al., 2009).

Um dos fatores limitantes da propagação convencional na cultura do abacaxizeiro é a qualidade fitossanitária das mudas que dificulta a expansão de novas áreas de cultivo e demanda um manejo mais intensivo que minimize a proliferação de pragas e doenças como a fusariose (*Fusarium guttiforme* Nirenberg & O'Donnell) (REINHARDT; CUNHA, 2006) ou a murcha do abacaxizeiro (PMWaV (*Pineapple mealybug wilt-associated virus*) (SOUZA et al., 2013).

#### *Propagação por Seccionamento de Talo*

Outro método avaliado foi a produção de mudas a partir do seccionamento do talo, que resultou em uma média de 2,3 mudas por caule e um total de 47 mudas ao final do trabalho. A baixa produção de mudas por meio deste método pode estar relacionada ao pequeno porte da planta deste híbrido, selecionado para planta de vaso justamente por essa característica. Os talos são muito curtos e finos com comprimento médio de 13 cm e diâmetro de 3 cm, dificultando a emergência das brotações (Tabela 2).

**Tabela 2.** Número de mudas obtidas na propagação por seccionamento do talo de híbrido miniaturizado de abacaxizeiro ornamental ORN-MUT. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

Variáveis	Média	Mínimo	Máximo	S*	CV (%)
Comprimento (cm)	13,00	10,00	16,00	1,71	13,43
Diâmetro (cm)	3,00	2,00	4,00	0,50	14,75
Mudas/caule	2,35	0,00	4,00	1,18	50,30

\*Referente ao desvio-padrão.

Conforme Reinhardt e Cunha (2006), caules de abacaxizeiros muito pequenos apresentam baixas taxas de brotações, devido ao desenvolvimento vegetativo mais lento e o longo período para que as mudas alcancem o tamanho

adequado, comprometendo o rendimento das seções. O seccionamento do talo, entretanto, já vem sendo utilizado com êxito para outras variedades de abacaxi, especialmente as de uso alimentar.

De acordo com Reinhardt et al. (2013), em um hectare de canteiros, podem ser cultivados até 550 mil pedaços de caule, obtendo-se aproximadamente 450 mil mudas de abacaxi, prontas para comercialização e plantio após 6 a 10 meses de cultivo. Podendo-se obter uma produção média de 10 mudas por talo de abacaxi para a cultivar Pérola e 20 mudas por talo para a cultivar BRS Imperial (PADUA, 2013).

Esperava-se que a produção de mudas por seccionamento do talo se constituísse em um método mais eficiente para a propagação do híbrido miniaturizado ORN-MUT. No entanto, a técnica pode ser complementar ao método convencional, após a obtenção dos tipos de mudas convencionais e por isso não deve ser desprezada.

O estágio fisiológico da planta é determinante para o êxito desse método. A obtenção do talo deve ser feita logo após a colheita do fruto, quando a emissão de rebentões se intensifica, de forma que qualquer atraso pode significar a redução do vigor. Esse princípio foi respeitado neste trabalho, considerando, inclusive apenas o primeiro ciclo de frutificação da planta e não o florescimento recorrente. Entretanto outra hipótese para esse resultado tão baixo pode estar relacionada ao balanço hormonal endógeno de uma planta que está determinada para um novo florescimento, caso desse mutante. Ao final da frutificação, a planta tem sua fisiologia voltada para o perfilhamento e, neste caso, especificamente, a planta voltará a florescer, o que pode alterar o balanço hormonal da mesma (MERCIER, 2004).

*Métodos de propagação in vitro: micropropagação convencional e micropropagação por estiolamento.*

Das sete plantas selecionadas para realizar o estabelecimento *in vitro* do híbrido foi possível excisar 138 gemas para inoculação em meio de cultura após procedimento de desinfestação de acordo com Souza et al. (2013).

Foram registradas contaminações fúngicas (39,2%) e bacterianas (25,4%) além de gemas oxidadas (3,62%), restando 44 gemas para a realização do

trabalho. Essa elevada taxa de contaminação na etapa de estabelecimento deixa evidente a necessidade de ajustes no protocolo de desinfestação usado, ainda que o mesmo tenha se mostrado adequado para vários genótipos de abacaxizeiros (MORAES et al., 2007; SOUZA et al., 2012b; 2013; ALVES et al., 2014).

#### *Micropropagação convencional*

Seguindo o método convencional de micropropagação foram obtidas 1.284 plantas após os quatro subcultivos realizados. A taxa de crescimento (Tabela 3) registrada mostrou um pico de produção no quarto subcultivo, o que não é muito diferente do que foi observado em outros trabalhos, ainda que, de uma forma geral esse pico está entre o terceiro e quarto subcultivo para muitos genótipos.

**Tabela 3.** Número total de brotos nos quatro subcultivos para cada um dos métodos de propagação *in vitro* utilizados e taxa de crescimento geométrico entre os subcultivos do híbrido miniaturizado ORN-MUT de abacaxizeiro ornamental. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

Métodos <i>in vitro</i>	Subcultivos (S)					Taxa de crescimento geométrico			
	S0	S1	S2	S3	S4	S0-S1	S1-S2	S2-S3	S3-S4
Micropropagação convencional	20*	60	208	852	1.284	2,47	2,80	3,18	0,92
Micropropagação/ Estiolamento /60 dias	114**	365	1.224	980	572	2,62	2,73	-0,49	-1,19
Micropropagação /Estiolamento /120 dias	221*	296	1.238	1.302	935	0,65	3,23	0,11	-0,73

\* Considerando 20 explantes iniciais (gemas).

\*\* O subcultivo inicial para a micropropagação por estiolamento é o número total de nós (gemas axilares) formado a partir de 20 plantas durante o período de estiolamento.

Silva et al. (2016b), avaliando vários genótipos de abacaxi oriundos do Banco Ativo de Germoplasma *in vitro*, registraram um comportamento geral que mostra um aumento nas taxas de crescimento geométrico nos três primeiros subcultivos, seguido de uma queda nos subcultivos seguintes, decorrente da diminuição do potencial propagativo da planta. Souza (2015), avaliando a micropropagação de abacaxizeiros voltados para o uso de fibras, também registrou

comportamento similar. Esse tipo de comportamento durante a micropropagação foi registrado a partir do uso da taxa de crescimento geométrico, usada pela primeira vez por Silveira et al. (2009) para *Neoglasiovia variegata* (Arruda) Mez, outra bromeliácea. O crescimento geométrico explica com mais precisão o comportamento biológico dos tratamentos se comparado com o número de brotos obtido, refletindo o potencial propagativo da espécie avaliada (SILVA et al., 2016b).

#### *Micropropagação por estiolamento dos segmentos nodais*

Na Tabela 4 é possível observar o resultado no que se refere ao comprimento médio das hastes e ao número médio de entrenós nos dois tratamentos de estiolamento (60 e 120 dias). Os resultados demonstram uma correlação entre o tempo de estiolamento e o comprimento da haste e número de entrenós. A região dos entrenós é onde ocorre o processo de brotação por meio de gemas axilares e o número de entrenós se constitui no número de explantes de partida para a etapa de multiplicação.

**Tabela 4.** Comprimento médio da haste, número médio e total de entrenós e número total gemas axilares formadas nos dois tempos de estiolamento (60 e 120 dias). Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

Tempo de estiolamento (dias)	Comprimento médio da haste (cm)	Número médio de entrenós	Número total de gemas axilares formadas nos entrenós *
60	5,4	5,7	114
120	10,5	11,05	221

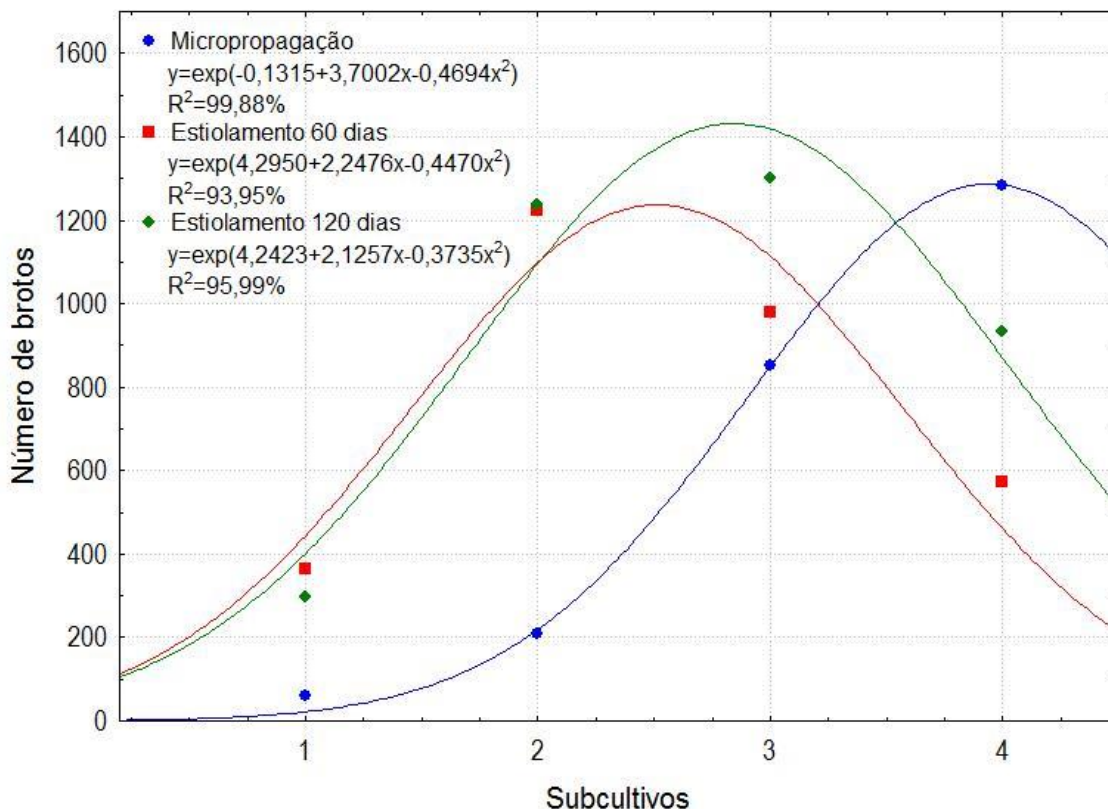
\* O número total de entrenós se constitui no número de explantes de partida (S0).

As hastes que resultaram de 60 dias de estiolamento tiveram seu pico de produção no segundo subcultivo com a obtenção de 1.224 plantas (Tabela 3). No entanto, apresentaram uma queda significativa no número de plantas obtidas ao final dos quatro subcultivos, principalmente do terceiro para o quarto (Tabela 3). Essa queda acentuada na produção de plantas deveu-se, principalmente à perda de muitos brotos, que ao início do subcultivo pareciam sadios, mas que

demonstraram passar por um processo intenso de oxidação que acabou levando à morte uma parcela significativa do que foi produzido. Pelizza et al. (2016) relataram um processo de oxidação em plantas da amoreira preta “Xavante” que pode ter sido causado pela interação do tempo das plantas matrizes *in vitro* em ausência de luz com a redução dos sais de MS no meio de cultura. Entretanto, não são poucos os trabalhos que destacam a ausência de luz como uma estratégia para reduzir processos de oxidação *in vitro*, deixando evidente a necessidade de estudos adicionais para o entendimento das causas que levaram a essa oxidação tão elevada.

Já as hastes do tratamento de 120 dias produziram 935 plantas ao final dos quatro subcultivos, com o pico de produção no terceiro subcultivo (1.302 plantas). Apesar do número de explantes de partida (número de entrenós) ser maior, não houve uma correlação com o número de brotos, sendo o seu potencial propagativo um pouco maior do que o tratamento com 60 dias de estiolamento. Ou seja, aumentar o tempo de estiolamento, apesar de se incrementar o número de entrenós, não impacta na obtenção final de brotos se considerarmos o prolongado tempo exigido para tal.

A regressão de Poisson demonstra de forma mais clara a diferença entre os métodos de propagação *in vitro*, em termos do número de brotos produzidos e os subcultivos avaliados, assim como o comportamento das plantas ao longo dos subcultivos (Figura 4). Os três métodos apresentaram picos de produção em momentos distintos, mas todos mostram uma queda de potencial propagativo, o que já foi registrado em outros trabalhos, tanto com abacaxi (HAMAD; TAHA, 2008), como com outras culturas, a exemplo da bananeira (MENDES et al., 1999). As causas para esse decréscimo podem ser variadas, mas a duração do intervalo entre subcultivos parece ser relevante. Intervalos muito curtos podem favorecer o subcultivo de gemas ainda pouco produtivas.



**Figura 4.** Número de brotos produzidos e estimados pelo modelo de regressão log-linear de Poisson em função dos subcultivos em diferentes métodos de propagação *in vitro* do híbrido ORN-MUT de abacaxizeiro ornamental. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2017.

A micropropagação convencional ou a micropropagação por estiolamento dos segmentos nodais são métodos que já vêm sendo estudados para produção de mudas do abacaxizeiro. Diversos protocolos já estão descritos na literatura científica (GUERRA et al., 1999; MOREIRA et al., 1999; CARVALHO et al., 2005; SOUZA et al., 2010b; SANTOS et al., 2015), mas nenhum se propôs a comparar as técnicas *in vitro*, conforme demonstrado nesse trabalho.

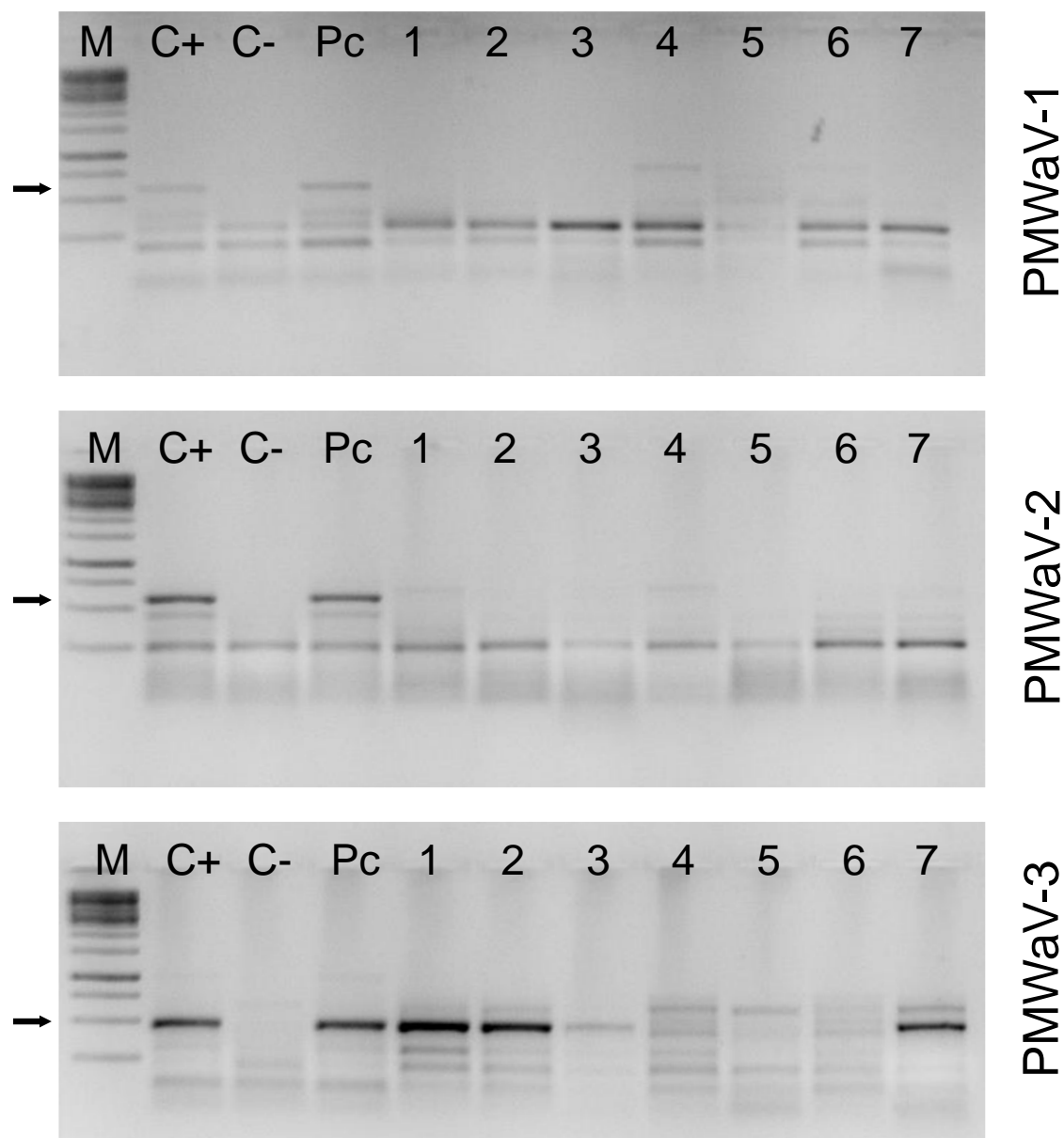
Comparando-se os métodos avaliados destaca-se uma menor produção de mudas pelos métodos *ex vitro*, ainda que como comentado, o resultado para o seccionamento de talo não corresponde ao que existe registrado para outras variedades, muito provavelmente devido à mutação.

Quanto aos métodos *in vitro* avaliados, o método de propagação convencional e o estiolamento no período de 60 dias, demonstraram ser eficientes para a obtenção de uma grande quantidade de mudas em um espaço de tempo

menor. Uma vez que, o período compreendido entre a fase de estabelecimento de gemas e o pico de produção de mudas ao longo dos subcultivos para esses métodos foi muito semelhante. Na micropropagação convencional foram necessários 225 dias para se obter um pico de produção de 1.284 plantas, que coincidiu com o 4º subcultivo do método. Na rota por estiolamento com 60 dias, houve uma diferença de apenas 15 dias em relação a micropropagação convencional, necessitando de 240 dias para se obter um pico de produção de 1.224 plantas, que coincidiu com o 2º subcultivo. A produção de mudas a partir das hastes estioladas com 120 dias, apesar de apresentar pico de produção de 1.302 plantas no 3º subcultivo (superior aos demais tratamentos *in vitro*), precisou de 345 dias para obtenção de uma grande quantidade de mudas, ou seja, um tempo adicional de 4 meses em relação aos métodos anteriores, sendo, portanto, pouco eficiente na avaliação deste estudo.

#### *Indexação, cultivo de ápices caulinares e plantas livre de vírus*

Referente ao cultivo de ápices caulinares e limpeza viral do híbrido miniaturizado ORN-MUT foi observado que 70% das plantas sobreviveram e se desenvolveram satisfatoriamente para proceder as análises de indexação. A morte registrada foi devido à oxidação dos ápices caulinares, em função do pequeno tamanho e possíveis ferimentos na região meristemática. A indexação permitiu identificar três plantas (4, 5 e 6) livres dos três tipos virais (PMWaV- 1, 2 e 3) causadores da murcha do abacaxizeiro. A planta oriunda do cultivo em campo, bem como o controle positivo, apresentaram fragmentos correspondentes ao tamanho do vírus (592 pb), usado como padrão marcador 1 Kb (Ludwig) (Figura 5).



**Figura 5.** Indexação das plantas do híbrido miniaturizado ORN-MUT de abacaxizeiro ornamental em relação aos três tipos do vírus da murcha PMWaV (*Pineapple mealybug wilt-associated virus*) PMWaV-1, PMWaV-2 e PMWaV-3. **M)** Marcador de Peso Molecular 1 kb; **C+)** Controle positivo, planta contaminada com as três cepas virais; **C-)** Controle negativo, planta livre de vírus; **Pc)** Planta em campo do ORN-MUT utilizada como explante inicial para o cultivo *in vitro*; **1-7)** Clones *in vitro* após a micropropagação e cultivo de ápice caulinar do ORN-MUT.



Dos ápices caulinares sobreviventes, foi possível a limpeza viral de 43% (3 de 7 ápices) das plantas do ORN-MUT avaliadas. As plantas deste híbrido apresentaram os três tipos virais e a remoção do PMWaV-3 parece ser a mais difícil. Não existe nenhum estudo que possa subsidiar esse tipo de afirmação, mas resultado similar foi registrado em outros estudos preliminares realizados e ainda não publicados em relação ao PMWaV-3. O cultivo de ápices pode ser uma estratégia eficiente na limpeza viral da murcha na cultura do abacaxizeiro. De acordo com Souza et al. (2010a), estudando a cultivar BRS Ajubá, de uso alimentar, observaram resultados significativos obtendo-se metade das plantas avaliadas livre do vírus pela mesma técnica, assim como Silva (2014) obteve 90% de acessos de *Ananas comosus* L. avaliados livres do PMWaV.

O sucesso da limpeza viral está altamente correlacionado com o tamanho final do ápice caulinar. Quanto menor o tamanho do ápice, maior a eficiência na limpeza viral e também menor a chance de sobrevivência (BISWAS et al., 2007). Sabe-se que o vírus da murcha está localizado nos tecidos do floema da planta e que a região do domo meristemático é ausente desses tecidos (WANG; VALKONEN, 2009; NIEHL; HEINLEIN, 2011). Souza et al. (2016) observaram por meio de cortes histológicos dos ápices caulinares que a região do domo meristemático é ausente ou pouco vascularizado, com células de citoplasma bem adensado e à medida que vai se distanciando do domo, os tecidos começam a se diferenciar para tecidos transmissores (xilema e floema) e tecidos parenquimáticos.

Deste modo, para uma limpeza e sobrevivência dos ápices caulinares deve-se deixar o domo meristemático intacto com apenas 1 a 2 primórdios foliares e com tamanho de 0,5 mm a 1,0 mm, sendo possível obter plantas saudáveis e ausentes do vírus PMWaV (SILVA, 2014).

O método de limpeza viral a partir do cultivo *in vitro* de ápices caulinares foi descrito para várias espécies e está associado a outras técnicas como a termoterapia e a crioterapia (SETHER et al., 2001; BRISON et al., 1997; WANG, et al., 2008; SOUZA et al., 2016). Recentemente, dados preliminares demonstraram o êxito da crioterapia na limpeza total do PMWaV em plantas avaliadas a partir do cultivo de ápices caulinares de *A. comosus* var. *bracteatus* (GUERRA et al., 2016). Desse modo, a técnica também surge como uma estratégia complementar a outros métodos de limpeza do vírus PMWaV para a cultura do abacaxizeiro.

## CONCLUSÃO

O híbrido miniaturizado ORN-MUT demonstrou uma boa capacidade de perfilhamento pelo método convencional de produção de mudas;

O método de propagação por seccionamento do talo, apesar de pouco produtivo, pode ser relevante como estratégia complementar à propagação convencional

A propagação *in vitro* do ORN-MUT a partir das técnicas de micropropagação convencional e estiolamento dos segmentos nodais demonstraram ser eficientes para a produção de uma grande quantidade de mudas uniformes;

Os métodos de micropropagação convencional e estiolamento dos segmentos nodais com período de 60 dias apresentaram vantagem sobre o método por estiolamento com período de 120 dias, especificamente em relação ao tempo necessário para a obtenção de mudas;

O cultivo de ápices caulinares é uma estratégia eficiente para promover a limpeza do complexo viral PMWaV da cultura do abacaxizeiro e propiciar a obtenção de matrizes sadias.

**REFERÊNCIAS**

AGHION, D.; BEAUCHESNE, G. Utilization de la technique de culture sterile d'organes pour des clones d' *Ananas*. **Fruits**, Paris, v. 15, n. 10, p. 464-466, 1960.

ALBUQUERQUE, C. C.; CAMARA, T. R.; MENEZES, M.; WILADINO, L.; MEUNIER, I.; ULISSES, C. Cultivo *in vitro* de ápices caulinares de abacaxizeiro para limpeza clonal em relação à fusariose. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 363-366, 2000.

ALVES, K. A.; LONDE, L. N.; MELO, E. F.; RODRIGUES, G. B. Multiplicação de abacaxizeiros ornamentais em diferentes concentrações de BAP e períodos de avaliação do desenvolvimento *in vitro*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 188-198, 2014.

AYDIEH, A.A.; IBRAHIM, M.K.H; IBRAHIM, A. In vitro propagation and fruiting of pineapple. **Egyptian Journal of Horticulture**, Cairo, v. 27, n. 3, p. 289-304, 2000.

BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S. Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* de abacaxizeiro híbrido PE x SC-52. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 417-423, 2001.

BARBOZA, S.B.S.C. Comparação de protocolos para micropropagação do abacaxizeiro [*Ananas, comosus (L.) Merrill*]. 1999. 76f. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade de Brasília, Brasília, 1999.

BISWAS, M.K.; HOSSAIN, M.; ISLAM, H. Virus free plantlets production of strawberry through meristem culture. **World Journal of Agricultural Sciences**, Dubai, n.3, v.6. p. 757-763, 2007.

BRISON, M.; BOUCAUD, M. T.; PIERRONNET, A.; DOSBA, F. Effect of cryopreservation on the sanitary state of a cv. *Prunus* rootstock experimentally contaminated with Plum Pox Poty virus, **Plant Science**, Amsterdam, v. 123, n. 1, p. 189-196, 1997.

CARVALHO, A. C. P. P.; BRAGA, E. P.; SANTOS, M. R. A.; MORAIS, J. P. S. Micropropagação de abacaxi ornamental (*Ananas comosus* var. *bracteatus*) por meio da indução ao estiolamento e regeneração de plântulas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 121-126, 2005.

CARVALHO, A. C. P. P.; SOUZA, F. V. D.; SOUZA, E. H. **Produção de abacaxizeiro ornamental para flor de corte**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria (Documentos 169), 2014, 44 p.

FEUSER, S.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Eficiência comparativa dos sistemas de cultura estacionária e imersão temporária para a micropropagação do abacaxizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 6-10, 2001.

GAMBINO, G.; PERRONE, I.; GRIBAUDO, I. A rapid and effective method for RNA extraction from different tissues of grapevine and other woody plants. **Phytochemical Analysis**, Chichester, v. 19, p. 520-525, 2008.

GUERRA, M. P.; DALVESCO, L. L.; PESCADOR, R.; SCHUELTER, A. R.; NODARI, R. O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1557-1563, 1999.

GUERRA, P. A.; SILVA, B. F. B.; SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D. Crioterapia de ápices caulinares para remoção do complexo viral da murcha do abacaxizeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 4., 2016, Curitiba. **Anais...**, Curitiba: Centro de Convenções Expo Unimed, 2016. 715 p.

HAMAD, A. M.; TAHA, R. M. Effect of sequential subcultures on *in vitro* proliferation capacity and shoot formations pattern of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) over different incubation periods. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 117, n. 4, p. 329-334, 2008.

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

LARKIN, P. J.; SCOWCROFT, W. R. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 60, n. 4, p. 197-214, 1981.

MATOS, A. P.; REINHARDT, D. H.; SANCHES, N. F.; SOUZA, L. F. S.; TEIXEIRA, F. A.; ELIAS JUNIOR, J.; GOMES, D. C. **Produção de mudas sadias de abacaxi**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura (Circular Técnica 89), 2009. 12 p.

MENDES, B. M.J; FILIPPI, S. B.; DEMÉTRIO, C. G. B.; RODRIGUES, A. P.M. A Statistical approach to study the dynamics of micropropagation rates, using banana (*Musa spp.*) as an exemple. **Plant Cell Reports**, New York, v. 18, n. 12, p. 967-971, 1999.

MERCIER, H. Auxinas. In: KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2004. p. 217- 219.

MORAES, A. M.; ALMEIDA, F. A. C.; CAZÉ FILHO, J. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de gemas axilares de abacaxizeiro. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.1, n. 2, p. 39-44, 2007.

MOREIRA, M. A.; SOBRINHO, A. A.; PASQUAL, M. Indução ao estiolamento '*in vitro*' de brotos de abacaxi cv. Pérola. **Revista da Universidade de Alfenas**, Alfenas, v. 5, p. 193-197, 1999.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for a rapid growth and bio assays with tobacco tissues cultures. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 15, n. 3, p. 473-479, 1962.

NIEHL, A.; HEINLEIN, M. Cellular pathways for viral transport through plasmodesmata. **Protoplasma**, Leipzig, v. 248, n. 1, p. 75-99, 2011.

PÁDUA, T. R. P. **Tecnologia de produção de mudas de abacaxi**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2013. 10 p.

PELIZZA, T. R.; SILVEIRA, F. N.; RIBEIRO, R. S.; MACHADO, B. D.; RUFATTO, L.; KRETZSCHMAR, A. A. *In vitro* establishment of blackberry (*Rubus* sp.) cultivar 'Xavante'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 9, p. 1542-1545, 2016.

REINHARDT, D. H. R. C., SOUZA, L. F. S., CABRAL, J. R. S. **Abacaxi. Produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 77 p.

REINHARDT, D. H. R. C.; CUNHA, G. A. P. **A propagação do abacaxizeiro**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica (Coleção Plantar 52), 2006. 59 p.

REINHARDT, D. H. R. C.; MATOS, A. P.; CUNHA, G. A. P.; LIMA, V. P. **Propagação**. In: SANCHES, N. F.; MATOS, A. P. Abacaxi: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília: Embrapa, 2013. p. 33-49.

SANTOS, P. B.; BARBOSA, F. S.; VIEIRA, C. F.; CARVALHO, A. C. P. P. Número de explantes, meio de cultura e fotoperíodo na micropropagação de abacaxizeiro ornamental. **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v. 46, n. 4, p. 749-754, 2015.

SAS Institute. SAS/STATs 9.22 User's Guide, Cary, North Carolina: **SAS Institute**, 2010.

SETHER, D. M.; KARASEV, A. V.; OKUMURA, C. ARAKAWA, C.; ZEE, F.; KISLAN, M. M.; BUSTO, J. L.; HU, J.S. Differentiation, distribution, and elimination of two different Pineapple mealybug wilt associated viruses found in pineapple. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, n. 8, p. 856-864, 2001.

SETHER, D. M.; MELZER, M. J.; BUSTO, J.; ZEE, F.; HU, J. S. Diversity and mealybug transmissibility of ampelo viruses in pineapple. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, p. 450-456. 2005.

SETHER, D.M.; HU, J.S. Closterovirus infection and mealybug exposure are necessary for the development of mealybug wilt of pineapple disease. **Phytopatology**, Saint Paul, v. 92, n. 9, p. 928-935, 2002.

SILVA, B. F. B.; SOUZA, E. H.; GUERRA, P. A.; SOUZA, F. V. D. Caracterização morfológica e fenológica de um mutante floral de abacaxizeiro ornamental voltado

para planta de vaso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 4., 2016, Curitiba. **Anais...**, Curitiba: Centro de Convenções Expo Unimed, 2016a. 715 p.

SILVA, R. L. Viabilidade, estabilidade genética e limpeza viral de plantas de abacaxizeiro mantidas sob conservação *in vitro* por dez anos. 2014. 87 f. **Dissertação** (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2014.

SILVA, R. L.; FERREIRA, C. F.; LEDO, C. A. S.; SOUZA, E. H.; SILVA, P. H.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, F. V. D. Viability and genetic stability of pineapple germplasm after 10 years of *in vitro* conservation. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.127, n. 1, p.123-133, 2016b.

SILVEIRA, D. G.; SOUZA, F. V. D.; PELACANI, C. R.; SOUZA, A. S.; LEDO, C. A. S.; SANTANA, J. R. F. Micropropagation and *in Vitro* Conservation of Neoglaziovia variegata (Arr. Cam.) Mez, a Fiber Producing Bromeliad from Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 4, p. 923-932, 2009.

SOUZA, C. P. F. Caracterização de variedades de abacaxi e sua potencial utilização como fonte de fibras. 2015. 91 f. **Dissertação** (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2015.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; COSTA JUNIOR, D. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; LEDO, C. A. S. Genetic variation of the *Ananas* genus with ornamental potential. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Netherlands, v. 59, n. 7, p. 1357-1476, 2012a.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; SILVA, M. J.; SOUZA, A. S.; COSTA, M. A. P. C. Growth regulators and physical state of culture media in the micropropagation of ornamental pineapple hybrids. **Plant Cell Culture Micropropagation**, Lavras, v. 8, n. 1-2, p. 10- 17, 2012b.

SOUZA, F. V. D.; CHUMBINHO, E. A.; JUNGHANS, D. T.; CARVALHO, E. L.; SANTOS, K. C. Cultivo de meristemas apicais de plantas *in vitro* para limpeza viral em abacaxi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 21., 2010, Natal. **Anais...**, Natal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2010a.

SOUZA, F. V. D.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, E. H.; SANTOS, O. S. N.; SANTOS SEREJO, J. A.; FERREIRA, F. R.; SILVA, M. J. **Abacaxi ornamental: uma riqueza a ser explorada**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura (Abacaxi em foco 37), 2007, 2 p.

SOUZA, F. V. D.; CANTO, A. M. M. E.; SOUZA, A. S.; COSTA, M. A. P. C. Residual effect of growth regulators in etiolation and regeneration of *in vitro* pineapple plants. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 612- 617, 2010b.

SOUZA, F. V. D.; KAYA, E.; VIEIRA, L. J.; SOUZA, E. H.; AMORIM, V. B. O.; SKOGERBOE, D.; MATSUMOTO, T.; ALVES, A. A. C.; LEDO, C. A. S.; JENDEREK, M. M. Droplet-vitrification and morphohistological studies of cryopreserved shoot tips of cultivated and wild pineapple genotypes. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 124, n. 2, p. 351-360, 2016.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; JUNGHANS, T. G.; SILVA, M. J. **Micropropagação do abacaxizeiro e outras bromeliáceas**. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. Aspectos práticos da micropropagação de plantas. Brasília: Embrapa, 2013, p. 189-215.

STATSOFT, Inc. Statistica for Windows (data analysis software system), version 7.1. Tulsa, Oklahoma: **Statsoft**, 2005.

TEIXEIRA, J. B.; CRUZ, A. R. R.; FERREIRA, F. R.; CABRAL, J. R. S. Biotecnologia aplicada à produção de mudas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 3, n. 19, p. 42-47, 2001.

WANG, Q.; CUELLAR, W.J.; RAJAMÄKI, M. J.; HIRATA, Y; VALKONEN, J. P. Combined thermotherapy and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of virus distribution, subcellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. **Molecular Plant Pathology**, San Francisco, v.9, n.2, p. 237-250, 2008.



WANG, Q.; VALKONEN, J. P. T. Cryotherapy of shoot tips: novel pathogen eradication method. **Trends in Plant Science**, Cambridge, v. 14, n. 3, p. 119-122, 2009.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao realizar a avaliação clonal do híbrido de abacaxizeiro ornamental ORN-MUT, o presente trabalho constatou a distinguibilidade em relação a seus parentais, assim como a uniformidade dos clones no primeiro florescimento. Essa avaliação já atende a dois dos critérios do teste de DHE exigido pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares, o da distinguibilidade e da Homogeneidade das plantas. Assim, fica faltando apenas o ensaio para avaliar a estabilidade genética que deve ser realizado considerando dois ciclos de produção.

O ORN-MUT apresentou diferenças morfológicas qualitativas e quantitativas em relação aos parentais e a outras cultivares já estabelecidas no mercado de flores e plantas ornamentais do país, sendo ideal para o cultivo em vaso. Além disso, o que chama a atenção para o genótipo é o florescimento recorrente que permite a produção de plantas miniaturizadas de abacaxi e o fato de que em nenhuma outra variedade do gênero *Ananas* foi relatada a ocorrência de tal fenômeno, sendo exclusivo do híbrido estudado. Trabalhos posteriores serão realizados visando entender as causas e origem dessa mutação, assim como a necessidade de um ajuste no sistema de produção desse híbrido.

No que se refere aos métodos de propagação vegetativa do ORN-MUT, a micropropagação convencional e o estiolamento dos segmentos nodais com período de 60 dias foram mais eficientes e vantajosos para a obtenção de uma grande quantidade de mudas uniformes, podendo-se por meio dessas técnicas escalonar a produção conforme a necessidade do produtor. Um desdobramento deste trabalho será o estudo em campo das mudas obtidas pelos diferentes métodos a fim de se avaliar o desempenho e possíveis efeitos da micropropagação no ciclo produtivo da planta. Apesar dos métodos *in vitro* terem se mostrado mais vantajosos, no que se refere ao número de mudas, não se descarta a importância da propagação convencional e do seccionamento do talo neste trabalho.

Por outro lado, o êxito no cultivo de ápices caulinares para a remoção do complexo viral PMWaV é de extrema importância e permite a obtenção de matrizes para a produção de um elevado número de mudas sadias.

Finalmente, este trabalho se constituiu em um avanço no conhecimento sobre as potencialidades deste híbrido para sua inserção no segmento de flores, com possibilidade de produção em larga escala de material propagativo.

As informações geradas são fundamentais para o estabelecimento de um sistema de produção de um produto inovador e de alto valor agregado.