

# LUZ NATURAL, SACAROSE E FITORREGULADORES NA ANATOMIA FOLIAR E CRESCIMENTO *IN VITRO* DE ABACAXIZEIRO MICROPROPAGADO

## NATURAL LIGHT, SUCROSE AND GROWTH REGULATORS ON LEAF ANATOMY AND *IN VITRO* GROWTH OF MICROPROPAGATED PINEAPPLE

ADRIANO BORTOLOTTI DA SILVA<sup>1</sup>, MOACIR PASQUAL<sup>2</sup>, EVARISTO MAURO DE CASTRO<sup>2</sup>, JOSÉ DARLAN RAMOS<sup>2</sup>, FRANCYANE TAVARES BRAGA<sup>3</sup>, APARECIDA GOMES DE ARAUJO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Professor da Faculdade de Agronomia – Universidade José do Rosário Vellano/UNIFENAS – Rod. MG 179 – KM 0 – CEP 37120-000 – Alfenas, MG – Brasil – adriano.silva@unifenas.br

<sup>2</sup>Professor Universidade Federal de Lavras/UFLA – Departamento de Agricultura – CP 3037 – CEP 37200-000 – Lavras, MG – mpasqual@ufla.br – darlan@ufla.br – Departamento de Biologia – emcastro@ufla.br

<sup>3</sup>Professora Adjunta da Universidade do Estado da Bahia, Campus VIII, Paulo Afonso. Rua do Gangrena, 503, Paulo Afonso –BA CEP 48650-000 – ftbraga@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Pesquisadora Flores e Frutas Tropicais – agaraujo2003@hotmail.com

### RESUMO

Conduziu-se este trabalho, com objetivo de avaliar os efeitos da luz natural, redução de sacarose e uso de fitorreguladores no cultivo *in vitro* de abacaxizeiro. Brotações de abacaxizeiro cv. Imperial foram cultivadas em diferentes meios de cultura: multiplicação (MS + BAP 1,0 mg L<sup>-1</sup> + ANA 0,25 mg L<sup>-1</sup>) e enraizamento (MS + ANA 0,25 mg L<sup>-1</sup>), acrescidos de sacarose (15 e 30 g L<sup>-1</sup>) e incubados em luz artificial e natural, por 60 dias. Após esse período, foram realizadas análises fitotécnicas e anatômicas. Na fase de multiplicação, maior número de brotos foi obtido em sala de crescimento (40 µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, temperatura de 25°C±1°C e 16 horas de fotoperíodo), com média de 40 brotações/explante. Entretanto, melhor crescimento *in vitro* foi obtido, em meio de enraizamento, em cultivo sob luz natural em casa de vegetação (DFFFA acima de 150 µmol.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, temperatura entre 27 e 31,5°C). As variáveis da anatomia foliar indicaram que a luz natural proporcionou maior espessura e alta frequência estomática, quando comparada com a micropropagação convencional. Assim, conclui-se que o emprego da luz natural na micropropagação de abacaxizeiro é viável e produz plantas mais adaptadas ao processo de aclimatização.

**Termos para indexação:** *Ananas comosus*, cultura de tecidos, anatomia vegetal.

### ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effects of natural light, reducing the use of sucrose and growth regulators on *in vitro* culture of pineapple. Shoots of pineapple cv. Imperial were grown in different culture media: multiplication (MS + BAP 1.0 mg L<sup>-1</sup> + NAA 0.25 mg L<sup>-1</sup>) and rooting (MS + NAA 0.25 mg L<sup>-1</sup>) plus sucrose (15 and 30 g L<sup>-1</sup>) and incubated in artificial and natural light for 60 days. After this period, anatomical and plant parameters were carried out. In the multiplication phase, highest number of shoots was obtained in a growth chamber (40 mol.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, temperature of 25° C ± 1° C and 16 hours photoperiod), with an average of 40 shoots per

explant. However, *in vitro* better growth was obtained using rooting medium in culture under natural light in the greenhouse (PPFD above 150 mol.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>, temperatures between 27 and 31.5° C). The variables of leaf indicated that the natural light provided greater thickness and high stomatal frequency, compared with the conventional micropropagation. Thus, it is concluded that the use of natural light in the micropropagation of pineapple is viable and makes plants more adapted to the process of acclimatization.

**Index terms:** *Ananas comosus*, tissue culture, plant anatomy.

### INTRODUÇÃO

O emprego de luz natural pode aproximar a micropropagação convencional do sistema de micropropagação fotoautotrófica, ou seja, possibilitar que plantas cultivadas *in vitro* aumentem sua taxa fotossintética pela maior densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (KODYM; ZAPATA-ARIAS, 1998; KOZAI et al., 1997).

A alta irradiância pode afetar diretamente o desenvolvimento das plantas *in vitro*, apresentando efeito sobre a lâmina foliar e modificando características, tais como espessura foliar, diferenciação do mesofilo, divisão celular e desenvolvimento dos estômatos (ZHOU et al., 2005; IBARAKI; NOZAKI, 2005).

Outro fator relevante refere-se ao custo com iluminação em salas de crescimento, nos laboratórios de cultura de tecidos. Esse fator representa um dos maiores custos na produção de

(Recebido em 15 de julho de 2010 e aprovado em 19 de janeiro de 2011)

mudas em laboratório, sendo superado apenas pelos gastos com mão de obra (ERIG; SCHUCH, 2005).

No processo de micropropagação, o meio de cultura exerce função importante, o acréscimo ou retirada de algum componente do meio, pode acarretar perda ou sucesso do processo de micropropagação. Portanto, meios contendo somente auxinas favorecem o alongamento e/ou enraizamento de plantas, enquanto que a adição de citocininas ao meio facilita a emissão de brotos. O BAP (6-benzilaminopurina), por sua vez, apresenta efeito conhecido de nanismo em propágulos crescendo *in vitro*, sendo necessária uma fase de cultivo na ausência desse regulador ou com auxinas, antes da aclimatização, para o enraizamento dessas brotações (PASQUAL, 2001). A sacarose é importante fonte de carbono para o cultivo *in vitro* (DAMIANI; SCHUCH, 2008), entretanto, em cultivos fotoautotróficos, tem sido considerada dispensável, pois, os propágulos apresentam maior desempenho na ausência desse composto orgânico.

Diante do exposto, neste trabalho, objetivou-se avaliar o efeito do emprego da luz natural e artificial, sacarose e fitoreguladores na anatomia e no crescimento *in vitro* de mudas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merr cv. Imperial).

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na Biofábrica da Empresa Campo – Cia de Promoção Agrícola, localizada na Embrapa Mandioca e Fruticultura, na cidade de Cruz das Almas, Bahia.

Gemas axilares oriundas de plantas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merr cv. Imperial) foram estabelecidas *in vitro*, em meio líquido MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com 6-benzilaminopurina (BAP) 1,0 mg L<sup>-1</sup>, ácido naftaleno acético (ANA) 0,1 mg L<sup>-1</sup> e sacarose 30 g L<sup>-1</sup>, o pH ajustado para 5,8, permanecendo em sala de crescimento (40  $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 16 horas de luz a 25  $\pm$  1 °C), por 60 dias.

Plantas produzidas na etapa anterior, com aproximadamente 1,0 cm de comprimento, foram usadas na montagem do experimento. Os tratamentos constaram de dois meios de cultura, o meio de multiplicação (MS + BAP 1,0 mg L<sup>-1</sup> + ANA 0,25 mg L<sup>-1</sup>) e meio de enraizamento (MS + ANA

0,25 mg L<sup>-1</sup>), em combinação com diferentes concentrações de sacarose (15 ou 30 g L<sup>-1</sup>), sendo incubados em luz natural ou luz artificial. Foram adicionados 30 mL de meio de cultura, em frascos de vidro com capacidade de 250 mL. Os meios de cultura foram solidificados com Phytigel® 1,4 g L<sup>-1</sup> e o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121 °C e 1,0 kg.cm<sup>-1</sup>, por 20 minutos. Após a inoculação, os recipientes foram vedados com filme de PVC e as culturas incubadas em luz natural e luz artificial. A luz artificial foi utilizada em sala de crescimento (luz branca fria), proporcionando densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA) de 40  $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 16 horas de fotoperíodo, a 25  $\pm$  1 °C. O cultivo sob luz natural foi realizado em casa de vegetação PADFAN, coberta com Sombrite® 50% e filme plástico de polietileno transparente (150 microns). A DFFFA foi medida fora e dentro da estufa (Tabela 1), utilizando IRGA (modelo ADC-LCA., Hodd., UK). A temperatura máxima, na casa de vegetação, variou de 27 °C a 31,5 °C, sendo controlada por sistema de ventilação forçada.

Após 60 dias de cultivo, foram realizadas avaliações com base nas seguintes características: número de brotos, comprimento da parte aérea e massa seca total. A massa seca foi medida após a secagem em estufa, por 10 dias, a 50 °C, sendo utilizadas 12 plantas por tratamento nas avaliações. As características anatômicas foram analisadas em termos de espessura da epiderme da face adaxial, parênquima aquífero e clorofiliano, epiderme da face abaxial, espessura total e número de estômatos por mm<sup>2</sup>.

Para os estudos anatômicos foliares, plantas inteiras com aproximadamente 5 cm de comprimento foram coletadas, lavadas em água corrente e, em seguida, fixadas em álcool 70° GL, sendo fixadas cinco plantas por tratamento. Os cortes das seções foliares foram realizados à mão livre. As seções transversais foram clarificadas em solução de hipoclorito de sódio a 1% e, em seguida, lavadas em água destilada e coradas com o corante azul de astra-safranina. As lâminas foram montadas em glicerina 50%, seguindo a metodologia descrita por Kraus e Arduin (1997). A partir das seções transversais, com o auxílio de ocular micrométrica, foram realizadas cinco medições da espessura

dos tecidos no terço mediano de cada lâmina foliar, em todos os tratamentos.

As seções, para a visualização da epiderme em vista frontal, foram realizadas na face abaxial da lamina foliar, na região mediana da lâmina foliar e a safranina hidroalcoólica 1% foi usada como corante na montagem das lâminas. A frequência estomática foi obtida por meio do emprego de câmara clara, em microscópio OLYMPUS CBB, de acordo com a técnica de Laboriau et al. (1961). Os diâmetros polar e equatorial do estômato foram obtidos com emprego de ocular micrométrica. As fotomicrografias foram realizadas, utilizando-se um fotomicroscópio OLYMPUS BX – 60.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2x2, sendo dois meios

de cultura (multiplicação e enraizamento) x sacarose (15 e 30 g L<sup>-1</sup>) x luz (artificial e natural), totalizando 8 tratamentos com 4 repetições, com 3 plantas por parcela para as variáveis fitotécnicas e 5 repetições para as características anatômicas. O programa SISVAR 5.0 (FERREIRA, 2011) foi utilizado para a realização das análises de variância (ANAVA), sendo as médias comparadas pelo Teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Crescimento *in vitro*** – O maior número de brotos, na fase de multiplicação, foi obtido em meio de cultura suplementado com sacarose 30g L<sup>-1</sup> em luz artificial, atingindo 40 brotações/explante, em média. A luz natural não mostrou efeito positivo para essa variável,

**TABELA 1** – Irradiância, em DFFFA ( $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), dentro e fora da estufa com luz natural.

Mês	Horário (h)	* DFFFA fora da estufa ( $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	* DFFFA dentro da estufa ( $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )
Janeiro	8	415	59
	9	560	71
	10	2.700	317
	11	1.224	148
	12	1.040	115
	14	2.365	166
	15	2.140	180
	16	1.720	120
	17	157	23
Média <sub>1</sub>	-	1.369	133,22
Fevereiro	8	1.370	95
	9	1.212	94
	10	2.012	222
	11	2.875	441
	12	2.140	210
	14	1.600	70
	15	2.412	165
	16	1.862	68
	17	1.370	94
Média <sub>2</sub>	-	1.872,55	162,11
Média Geral <sub>(1+2)</sub>	-	1.620,77	147,66

\* Dados obtidos em dias claros dos meses de janeiro e fevereiro (2006), Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia.

apresentando tratamentos com redução no número de brotos 40 a 60%, quando comparados com o melhor resultado em meio de multiplicação (Tabela 2).

No meio de cultura de multiplicação, suplementado com 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose, tanto em luz natural quanto em luz artificial, o número de brotos produzidos foi em torno de 26, sendo estatisticamente iguais (Tabela 1). No ambiente com luz natural, a redução da concentração da sacarose não promoveu queda significativa no número de brotações (Tabela 2). Isso evidencia que na multiplicação, em condições de alta irradiância, não é necessário o emprego de altas concentrações de sacarose, porém, em condições de luz artificial, o fator sacarose é limitante.

A multiplicação em meio de cultura, contendo somente auxinas, foi baixa, apresentando de 2 a 4 brotos por explante, concordando com Coelho et al. (2007). Os mesmos autores verificaram que a adição de auxina determinou maior emissão de brotos por coroa de abacaxizeiro, em cultivo em vaso. Essa multiplicação pode ser explicada pelo balanço hormonal da citocinina endógena das plantas com a auxina exógena. A luz natural promoveu maior taxa de multiplicação de bananeira ‘Grande

Naine’ *in vitro* (KODYM; ZAPATA-ARIAS, 1998), porém, esse desempenho, em número de brotos, não foi observado, neste trabalho, com abacaxizeiro.

O comprimento dos brotos foi influenciado pela interação tanto dos fatores luz e sacarose como luz e meios de cultura. A luz natural produziu brotos com maior comprimento em qualquer dosagem de sacarose e, principalmente, em meio de enraizamento (Tabela 3). O comprimento dos brotos *in vitro* de abacaxizeiro está relacionado diretamente com a sua sobrevivência *ex vitro* e brotos mais altos sobrevivem mais, durante o processo de aclimatização (ESCALONA et al., 1999).

O meio de multiplicação proporcionou brotos com os menores comprimentos médios (Tabela 3). O BAP apresenta efeito conhecido como nanismo em plântulas crescendo *in vitro*, sendo necessária uma fase de cultivo na ausência desse regulador ou com auxinas, antes da aclimatização, para o enraizamento dessas brotações (OLIVEIRA, 1994; PAIVA 1997, PASQUAL et al., 1998).

Adelberg et al. (1999), trabalhando com meloeiro *in vitro*, não observaram diferenças no comprimento das brotações, quando se comparou o cultivo fotoautotrófico (ausência de sacarose) com a micropropagação

**TABELA 2** – Número de brotos de abacaxizeiro cultivados *in vitro* em função da luz, concentração de sacarose e meios de cultura.

Luz	NÚMERO DE BROTOS			
	Meio multiplicação (30 g L <sup>-1</sup> )*	Meio multiplicação (15 g L <sup>-1</sup> )*	Meio enraizamento (30 g L <sup>-1</sup> )	Meio enraizamento (15 g L <sup>-1</sup> )
Artificial	40,00Aa	25,83Ab	6,54Aa	4,08Ab
Natural	29,58Ba	25,91Ab	3,16Ba	2,75Ba

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Scott & Knott a de 5% probabilidade.\*Concentração de sacarose.

**TABELA 3** – Comprimento de brotos de abacaxizeiro crescendo em função de luz, sacarose e meios de cultura.

Luz	COMPRIMENTO DE BROTOS (cm)			
	Sacarose (30 g L <sup>-1</sup> )	Sacaose (15 g L <sup>-1</sup> )	Meio multiplicação	Meio enraizamento
Artificial	2,79 Bb	2,55 Bb	1,30 Ab	5,04 Ba
Natural	3,72 Aa	3,85 Aa	0,80 Bb	6,80 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Scott & Knott a de 5% probabilidade.\*Concentração de sacarose.

convencional (fotomixotrófica). Entretanto, o enraizamento *in vitro* foi maior em cultivos com sacarose.

A alta irradiância, observada na casa de vegetação (tabela 1), promoveu o melhor desempenho de massa seca, juntamente com a adição de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose em meio de enraizamento (Tabela 4). Possivelmente, essa combinação de fatores levou ao aumento da taxa fotossintética, o que aproxima esse cultivo das condições fotoautotróficas. Os benefícios da alta irradiância têm sido demonstrados em cultivos fotoautotróficos para muitas espécies, como banana (KODYM et al., 2001), café (NGUYEN et al., 2001) e mirtilo (DAMIANI; SCHUCH, 2008).

O emprego de 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose no meio de cultura promoveu redução no acúmulo de massa seca (Tabela 4), ou seja, nas condições em que o presente experimento foi conduzido, parece existir uma combinação ótima entre a concentração de sacarose e a luz natural, que favorece o melhor crescimento *in vitro* do abacaxizeiro.

**Características anatômicas** - Não houve efeito da variável espessura da epiderme adaxial (28,87 µm) e abaxial (16,50 µm), e espessura do parênquima aquífero (161,25 µm) para os diferentes tratamentos testados. O

parênquima clorofiliano (Tabela 5), tecido responsável pela fotossíntese, apresentou maior espessura nas plantas crescendo em condições de luz natural, sendo a maior espessura verificada em plantas cultivadas em meio de multiplicação, contendo 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose (Tabela 5 e Figura 1 - LNMT). Outro excelente resultado foi obtido com plantas crescendo *in vitro* em meio de enraizamento suplementado com 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose na presença de luz natural (Tabela 5).

Esse desempenho pode representar, para essas plantas, maior capacidade fotossintética (DIMASSI-THERIOU; BOSABALIDIS, 1997) e menor estresse na passagem da condição heterotrófica e fotomixotrófica para a autotrófica, durante o processo de aclimatização. Maior desenvolvimento de parênquima paliçádico foi observado em gardênia cultivada *in vitro*, em altos níveis de irradiância durante o enraizamento (SERRET et al., 1996).

Dimassi-Theriou e Bosabalidis (1997) observaram em cultivo fotomixotrófico de *Actinidia deliciosa* sob alta irradiância (300 µmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>), que, de maneira geral, as células do parênquima paliçádico e da epiderme adaxial são maiores. Entretanto, não foi notada qualquer

**TABELA 4** – Massa seca total das plantas de abacaxizeiro em função da luz, sacarose e meios de cultura.

MASSA SECA TOTAL (g)				
Sacarose	Luz artificial	Luz natural	Meio multiplicação	Meio enraizamento
30 g L <sup>-1</sup>	0,23 Ab	0,36 Aa	0,24 Ab	0,35 Aa
15 g L <sup>-1</sup>	0,15 Ba	0,18 Ba	0,14 Bb	0,19 Ba

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

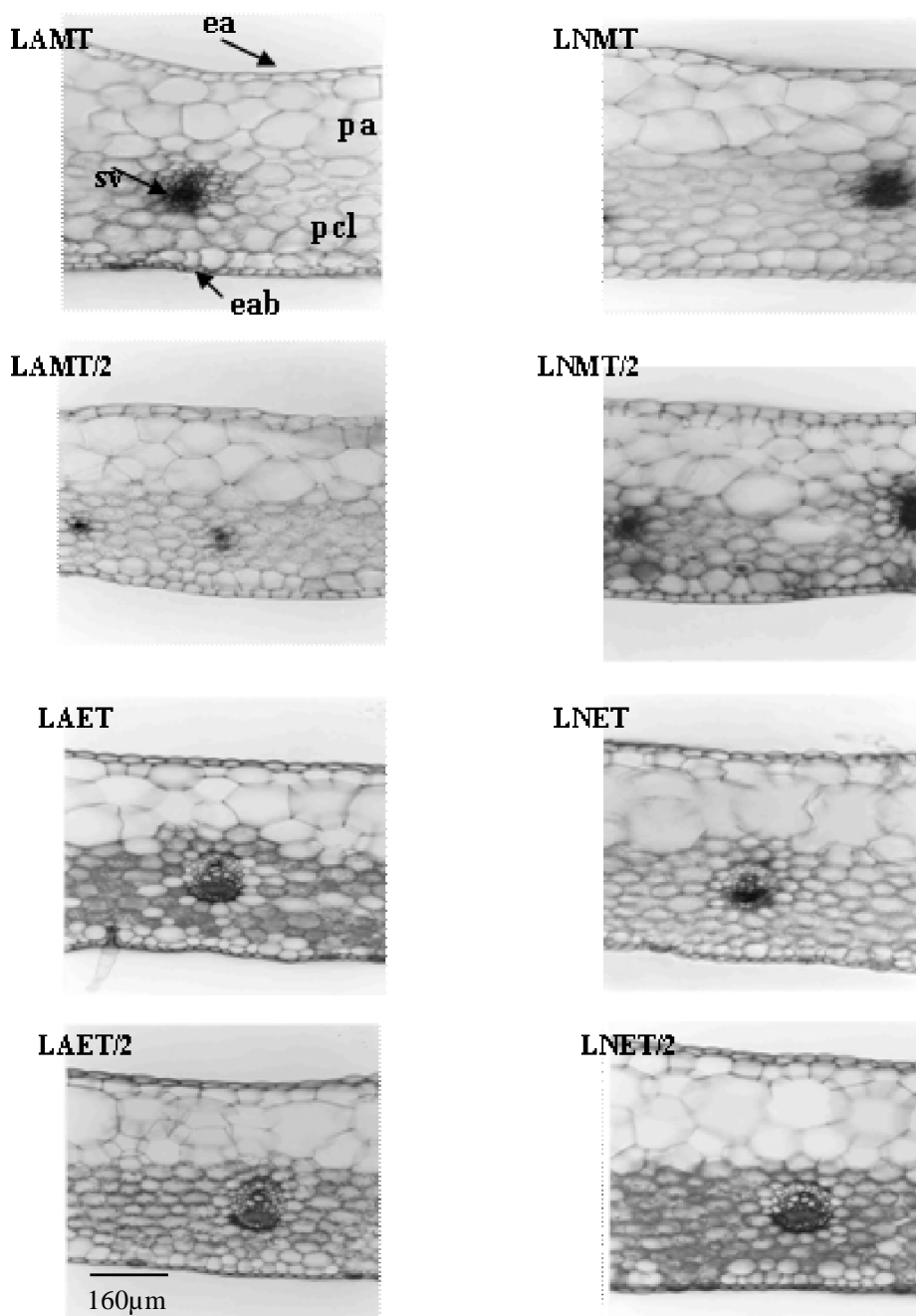
**TABELA 5** – Parênquima clorofiliano de abacaxizeiro cultivado *in vitro*, em função da luz, sacarose e meios de cultura.

PARÊNQUIMA CLOROFILIANO (µm)				
Luz	Meio multiplicação (30 g L <sup>-1</sup> )*	Meio multiplicação (15 g L <sup>-1</sup> )*	Meio enraizamento (30 g L <sup>-1</sup> )	Meio enraizamento (15 g L <sup>-1</sup> )
Artificial	230,48Ba	185,39Bb	187,68Bb	209,75Ba
Natural	292,99Aa	213,55Ab	234,42Ab	284,48Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade. \*Concentração de sacarose.

tendência clara com relação ao tamanho ou formato das células do parênquima clorofiliano de folhas de brotos,

crescendo *in vitro*, de abacaxizeiro (Figura 1), no presente trabalho.



**FIGURA 1** – Seções transversais de folhas *in vitro* de abacaxizeiro. **LA**- Luz artificial; **LN** - Luz natural; **MT**- Multiplicação com 30g L<sup>-1</sup> de sacarose; **MT/2** - Multiplicação com 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose; **ET** - Enraizamento com 30g L<sup>-1</sup> de sacarose; **ET/2** - (Enraizamento com 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose); **pa** (parênquima aquífero); **p cl** (parênquima clorofiliano); **ea** (epiderme adaxial); **eab** (epiderme abaxial); **sv** (sistema vascular).

O meio de multiplicação com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e o meio de enraizamento com 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose, em ambos os casos com plantas *in vitro* crescendo em luz natural (Tabela 6), promoveram as melhores respostas para a espessura foliar total. O aumento da espessura das folhas constitui um padrão clássico de resposta e adaptação das plantas à alta irradiância (LEE et al., 2000) e evidenciam a plasticidade adaptativa do cultivo de abacaxizeiro *in vitro* nessas condições.

O número de estômatos por mm<sup>2</sup>, de folhas de abacaxizeiro *in vitro*, foi maior na presença de luz natural, em meio de enraizamento com 30 g L<sup>-1</sup> ou 15 g L<sup>-1</sup> de sacarose, quando comparado com o obtido sob luz artificial (Tabela 7), no meio de enraizamento. Não há diferença estatística entre os tratamentos cultivados em meio de multiplicação (Tabela 7). Hazarika (2006) afirmou que os estômatos são estruturas fundamentais para as

plantas, porque, por meio deles, ocorrem os processos de trocas gasosas. Portanto, qualquer variação no número e/ou tamanho destes pode acarretar maior ou menor eficiência das plantas, quanto à taxa fotossintética.

Ocorreu aumento no número de estômatos/mm<sup>2</sup> nas folhas de plantas cultivadas *in vitro*, na micropropagação convencional (baixa irradiância), quando comparado àquelas que cresceram em outros ambientes (KHAN et al., 2003; RADOCHOVÁ et al., 2000). Entretanto, em plantas de campo, estudos têm demonstrado que sob alta irradiância, a frequência de estômatos por unidade superficial da folha é alta (JEON et al., 2005; BARBOZA et al., 2006). Hazarika (2006) encontrou maiores densidades estomática em propágulos cultivados em meio de enraizamento com alta irradiância, o que também foi observado no presente trabalho.

**TABELA 6** – Espessura das folhas de abacaxizeiro cultivados *in vitro* em função da luz, sacarose e meios de cultura.

Luz	ESPESSURA TOTAL (µm)			
	Meio multiplicação (30 g L <sup>-1</sup> )*	Meio multiplicação (15 g L <sup>-1</sup> )*	Meio enraizamento (30 g L <sup>-1</sup> )	Meio enraizamento (15 g L <sup>-1</sup> )
Artificial	420,35Ba	385,14Bb	385,43Bb	400,83Ba
Natural	480,92Aa	410,83Ab	423,00Ab	476,01Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.\* Concentração de sacarose.

**TABELA 7** – Número de estômatos por mm<sup>2</sup> em diferentes tipos de luminosidade e concentrações de sacarose.

Luz	NÚMERO DE ESTÔMATOS/ mm <sup>2</sup>			
	Meio multiplicação (30 g L <sup>-1</sup> )*	Meio multiplicação (15 g L <sup>-1</sup> )*	Meio enraizamento (30 g L <sup>-1</sup> )	Meio enraizamento (15 g L <sup>-1</sup> )
Artificial	58,46 Aa	59,94 Aa	69,56 Ba	65,86 Ba
Natural	63,64 Aa	59,94 Aa	74,00 Aa	73,26 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na vertical e minúscula na horizontal não diferem entre si, pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade.\*Concentração de sacarose.

### CONCLUSÃO

O emprego de luz natural na micropropagação de abacaxizeiro é viável. A incubação do cultivo *in vitro* de abacaxizeiro sob luz natural promoveu maior crescimento das plantas e folhas anatomicamente com maior parênquima clorofiliano, espessura foliar e número de estômatos/mm<sup>2</sup>. A luz natural na fase de multiplicação reduz o número de brotações do abacaxizeiro.

### REFERÊNCIAS

- ADELBERG, J. et al. Photoautotrophic shoot and root development for triploid melon. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.57, p.95-104, 1999.
- BARBOZA, S. B. S. C. et al. Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.185-194, 2006.
- COELHO, R. I. et al. Coroa do abacaxi 'Smooth Cayenne' na produção de mudas do tipo rebentão. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.1867-1861, 2007.
- DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Multiplicação fotoautotrófica de mirtilo através do uso de luz natural. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.482-487, 2008.
- DIMASSI-THERIOU, K.; BOSABALIDIS, A. M. Effects of light, magnesium and sucrose on leaf anatomy, photosynthesis, starch and total sugar accumulation, in kiwifruit cultured *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.47, p.127-134, 1997.
- ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Micropropagação fotoautotrófica e o uso da luz natural. **Ciência Rural**, v.35, p.961-965, 2005.
- ESCALONA, M. et al. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. **Plant Cell Reports**, v.18, p.743-748, 1999.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- HAZARIKA B.N. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. **Scientia Horticulturae**, v.108, p.105-120, 2006.
- IBARAKI, Y.; NOZAKI, Y. Estimation of light intensity distribution in a culture vessel. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.80, p.111-113, 2005.
- JEON, M. et al. Effects of photon flux density on the morphology, photosynthesis and growth of a CAM orchid, *Doritaenopsis* during post-micropropagation acclimatization. **Plant Growth Regulation**, v.45, p.139-147, 2005.
- KHAN, S. V. et al. Growth and water relations of *Paulownia fortunei* under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. **Biologia Plantarum**, v.46, p.161-166, 2003.
- KODYM, A.; HOLLENTHONER, S.; ZAPATA-ARIAS, F.J. Costs reduction in the micropropagation of banana by using tubular skylights as source for natural lighting. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v.37, p.237-242, 2001.
- KODYM, A.; ZAPATA-ARIAS, F. J. Natural light as alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata*) cv. Grande Naine. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.55, p.141-145, 1998.
- KOZAI, T.; KUBOTA, C.; JEONG, B. R. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.51, p.49-56, 1997.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: Rio de Janeiro, 1997. 198 p.
- LABORIAU, L. G.; OLIVEIRA, J. G.; SALGADO-LABORIAU, M. L. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v.31, p.237-257, 1961.
- LEE, D. W. et al. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian *Hopea* (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, v.87, p.447-455, 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiology Plant**, v.15, p.473-497, 1962.



- NGUYEN, Q. T. et al. Photoautotrophic growth response of *in vitro* cultured coffee plantlets to ventilation methods and photosynthetic photon fluxes under carbon dioxide enriched condition. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.66, p.215-225, 2001.
- OLIVEIRA, P.D. **Propagação *in vitro* de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzlev.) cv. Orange Reagen.** (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia). Lavras: ESAL, 1994, 116p.
- PAIVA, P.D.O. et al. Propagação *in vitro* de gloxinia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.3, n.2, p. 29-41, 1997.
- PASQUAL, M. **Cultura de Tecidos Vegetais: Meios de Cultura.** Lavras, UFLA/FAEPE, 2001, 74p.
- PASQUAL, M. et al. Efeito da cianimida hidrogenada e benzilamino purina na proliferação *in vitro* de brotos de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. Princesa Isabel. **Revista da Universidade de Alfenas**, v.4, n.2, p-115-119, 1998.
- RADOCHOVÁ, B. et al. Leaf structure of tobacco *in vitro* grown plantlets as affected by sucrose and irradiance. **Biologia Plantarum**, v.43, p.633-636, 2000.
- SERRET, M. D. et al. Development of photoautotrophic and photoinhibition of *Gardenia jasminoides* plantlets during micropropagation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.45, p.1-16, 1996.
- ZHOU, Y.H. et al. Effects of *in vitro* rooting environments and irradiance on growth and photosynthesis of strawberry plantlets during acclimatization. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.81, p.105-108, 2005.