

BRASSINOSTERÓIDE E SUBSTRATOS: EFEITOS NA
ACLIMATIZAÇÃO, CRESCIMENTO E NOS TEORES DE NUTRIENTES
DO ABACAXIZEIRO

PAULO HENRIQUE ARAGÃO CATUNDA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO- UENF
CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MAIO- 2007

**BRASSINOSTERÓIDE E SUBSTRATOS: EFEITOS NA
ACLIMATIZAÇÃO, CRESCIMENTO E NOS TEORES DE NUTRIENTES
DO ABACAXIZEIRO**

PAULO HENRIQUE ARAGÃO CATUNDA

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

Orientadora: Prof^a. Cláudia Sales Marinho

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MAIO- 2007

BRASSINOSTERÓIDE E SUBSTRATOS: EFEITOS NA
ACLIMATIZAÇÃO, CRESCIMENTO E NOS TEORES DE NUTRIENTES
DO ABACAXIZEIRO

PAULO HENRIQUE ARAGÃO CATUNDA

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

Aprovada em 28 de maio de 2007

Comissão Examinadora:

Prof. Fábio Lopes Olivares (Doutor, Agronomia)-UENF

Prof^a. Mara de Menezes de Assis Gomes (Doutora, Fisiologia Vegetal) -FAETEC

Prof. Almy Junior Cordeiro de Carvalho (Doutor, Fruticultura Tropical)- UENF

Prof^a. Cláudia Sales Marinho (Doutora, Fruticultura Subtropical) - UENF
Orientadora

A Deus e nossa Senhora de Fátima, por me mostrarem o caminho.

Aos meus amigos pelo apoio, estímulo, carinho, confiança e companheirismo.

À UENF, por tornar meus sonhos realidade, e por me conduzir à realização das
minhas metas.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Cláudia Sales Marinho, por me receber como aluno, e por estar sempre presente como orientadora.

À pesquisadora Claudia Fortes da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, por ajudar no processo de obtenção das mudas.

À Professora Mara Menezes, por participar da pesquisa.

Ao Osvaldo, que viabilizou a estrutura da Prefeitura Municipal de Campos dos Goytacazes nas dependências da Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo para realização do experimento.

Aos funcionários da Prefeitura Municipal de Campos dos Goytacazes, Zé, Roberto Carlos, Ismael e seu Geneci (in memoriam) pelo auxílio na montagem do experimento e o zelo com as plantas.

Ao professor Ricardo Louro, do laboratório de ultraestrutura vegetal, departamento de Botânica da UFRJ, por ceder a estrutura do laboratório e seu conhecimento para a realização do trabalho.

Ao Jader e aos funcionários do campo UAP-UENF, por sempre me ajudarem.

Aos técnicos de laboratório José Acácio e Detony, por estarem à disposição para ajudar e ensinar.

Aos meus Pais, por me ajudarem sempre.

Ao meu irmão Luiz, que é uma pessoa maravilhosa, da qual me orgulho muito.

Ao meu primo e irmão, Eduardo Aragão, pela contribuição direta, quando me ajudou no experimento e indireta, por ser um grande amigo e companheiro, tornando os momentos difíceis mais amenos e os momentos felizes ainda mais felizes.

Ao Professor Henrique Duarte e ao Professor Roberto Ferreira da Silva pela amizade, companheirismo e honestidade, exemplos que me foram dados ao longo do desenvolvimento.

Ao meu amigo Luiz Eduardo de Campos Crespo, pela amizade verdadeira de todos esses anos.

Ao meu amigo Fabio Nunes, pelos longos anos de amizade e convívio em harmonia.

Ao meu primo Ricardo e sua família, que estão sempre dispostos a me receber em Fortaleza, com todo o carinho.

À minha tia Isa Catunda, que está com 93 anos, pelo carinho que me proporcionou desde pequeno. Carinho esse que foi fundamental ao longo da minha vida.

Aos meus amigos Mazinho, Kadun e Jurandir, do setor de fisiologia vegetal.

A todos os meus primos e tios que torcem muito por mim.

À minha Vó e ao meu Vô, que são para mim exemplos de amor e dedicação.

A todo o povo de Ipueiras (Ceará), que me recebe sempre com muito carinho.

A todas as pessoas da Universidade, que me ajudaram de forma direta e indireta, obrigado pelo carinho.

À minha Amiga Sheila Posse (LFIT) e Patrícia do (LZNA) pelo carinho e por sempre me ajudarem.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense e ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, pela oportunidade de realizar o curso, pela felicidade e os maravilhosos e inesquecíveis momentos.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1. A cultura do abacaxizeiro	04
2.2. Aclimatização de plantas micropropagadas	08
2.3. Substratos.....	13
2.4. Características morfológicas das mudas micropropagadas....	18
2.5. Brassinosteróides.....	21
3. TRABALHOS.....	26
3.1 BRASSINOSTERÓIDE E SUBSTRATOS: EFEITOS NO CRESCIMENTO E NOS TEORES DE NUTRIENTES DO ABACAXIZEIRO EM FASE DE ACLIMATIZAÇÃO	
RESUMO	26
ABSTRACT	27
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
CONCLUSÕES	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

3.2 BRASSINOSTERÓIDE E O ESTADO NUTRICIONAL DO ABACAXIZEIRO CULTIVADO EM DOIS SUBSTRATOS

RESUMO	62
ABSTRACT	63
INTRODUÇÃO	64
MATERIAL E MÉTODOS	66
RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
4. RESUMO E CONCLUSÕES	81
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

RESUMO

CATUNDA, Paulo Henrique Aragão; Eng^o Agrônomo, D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; maio 2007; Brassinosteróide e Substratos: Efeitos na aclimatização, crescimento e nos teores de nutrientes do abacaxizeiro; Orientadora: Prof^a Cláudia Sales Marinho.

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da aplicação de diferentes concentrações de um análogo de brassinosteróide (BS) e do uso de dois substratos sobre o crescimento de mudas micropropagadas e teores de N, P e K no abacaxizeiro 'Imperial'. Foram conduzidos dois experimentos. O primeiro experimento foi conduzido sob delineamento em blocos casualizados, num esquema fatorial 5 x 2 x 4, onde foram avaliadas cinco concentrações do BS (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1 mg L⁻¹) dois tipos de substratos e quatro épocas de amostragem (60, 90, 120 e 150 dias após plantio). Os substratos utilizados foram o Plantmax® e um substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro (BT). Neste experimento foram avaliadas características biométricas das plantas. O segundo experimento foi conduzido em fase posterior à fase de aclimatização, no qual foram avaliados os teores de nutrientes na folha "D" assim como algumas características biométricas. Concluiu-se, que na fase de aclimatização, o BS e o substrato BT podem ser utilizados para acelerar o crescimento do abacaxizeiro e proporcionar a obtenção de mudas aclimatizadas em menor período de tempo. Verificou-se maior comprimento, área foliar, largura e massa seca da folha "D", assim como maiores teores de N e P nas plantas de abacaxizeiro cultivadas no substrato BT.

ABSTRACT

CATUNDA, Paulo Henrique Aragão; Eng^o Agrônomo, D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; may 2007; Brassinosteroid and Substrates: effects of acclimatization, growth and nutrients concentration on pineapple plants; Adviser: Prof^a Cláudia Sales Marinho.

The aim of this work was to verify the effect of the application of different contents of an analogue brassinosteroid (BS) and the use of two substrates over the growth, and about the contents of N, P and K on the “imperial” pineapple from micro propagation. It was evaluated too the changes in the ultrastructure of the chloroplasts and cellular wall's during the acclimatization period in micro propagated seedlings. Four experiments were conducted. The two first were conducted on randomized block design in a factorial organization 5 x 2 x 4, five contents of BS (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1 mg L⁻¹) where evaluated, two kinds of substrates and four sampling periods (60, 90, 120 and 150 days after the seeding). The substrates used were Plantmax and a substrate obtained from the composing of a mix between and crushed sugar-cane + filter cake (CC). In the first experiment, where evaluated plants biometric characteristics. The second experiment was conducted after the acclimatization period, in witch where evaluated the contents of nutrients in the “D” leaf, and some biometric characteristics. During the acclimatization stage was concluded that the BB – 16 and the CC substrate can be used to accelerate the growth of the pineapple and to obtain acclimatized seedlings in a lower period of time. It was verified a bigger length, leaf area, width and dry matter in the “D” leaf, and greater contents of N and P in the plants cultivated with the BT substrates.

1. INTRODUÇÃO

O abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) é considerado um autêntico fruto de regiões tropicais e subtropicais, consumido em todo o mundo, tanto ao natural quanto na forma de produtos industrializados (Chalfoun, 1998). Em 2005, a produção mundial de abacaxi foi de 15.8 milhões de toneladas, a área colhida foi de 857.770 ha (FAO, 2006). O Brasil destaca-se como sendo um dos quatro maiores produtores do mundo e o maior país produtor na América do Sul, com produção de 1,41 milhões de toneladas e a área plantada de 53.116 ha (FAO, 2007) sem apresentar, contudo, uma participação mais expressiva no mercado externo dessa fruta.

Muitos são os problemas que têm contribuído para impedir a expansão da abacaxicultura no Brasil, dentre os quais podemos destacar a falta de mudas de boa qualidade sanitária e em quantidade suficiente para formação de novas lavouras, o que favorece a proliferação de pragas e doenças na cultura (Gottardi et al., 2002).

A obtenção de mudas totalmente livres de pragas e doenças é possível por meio da cultura de tecidos vegetais, a qual permite a obtenção de milhares de mudas a partir de uma única gema, em curto espaço de tempo (Pasqual et al., 1998).

Apesar do grande número de plantas que se obtém através da micropropagação, esta tecnologia apresenta dois grandes problemas para a maioria das espécies de plantas: baixo percentual de adaptabilidade das plântulas micropropagadas durante a etapa de aclimatização e o longo período que essas plantas permanecem nesta fase (González et al., 1997).

A aclimatização das plântulas micropropagadas consiste na retirada e transferência destas do meio de cultivo "*in vitro*" para outro tipo de substrato e ambiente, com o objetivo de promover uma adaptação gradativa. Essa etapa é decisiva devido à perda de vigor e à morte das plantas causada pelo dessecação. A perda excessiva de água e a mudança do metabolismo heterotrófico para o autotrófico são condições que promovem um estresse nas plântulas (Moreira, 2001). Este estresse é prolongado, uma vez que nas mudas produzidas "*in vitro*" as raízes são, de modo geral, quebradiças, pouco funcionais na absorção de água e nutrientes, pois existem poucas conexões vasculares entre as raízes e as brotações, reduzindo as chances de sobrevivência na fase de aclimatização (Pasqual, 2001).

O uso de reguladores vegetais tem revelado eficiência promovendo acréscimo na taxa de sobrevivência das plantas no período de aclimatização (Yepes e Aldwinckle, 1994). Rogalski et al. (2003) verificaram que a aplicação de ácido 3-indolbutírico (AIB) em porta-enxertos de *Prunus sp.* foi eficaz resultando em taxas elevadas de sobrevivência “*ex vitro*”.

Os brassinosteróides (BR) são lactonas polihidroxi-esteroidais que ocorrem naturalmente em plantas. Os brassinosteróides são hormônios vegetais que promovem o alongamento celular, expansão celular, o gravitropismo, a resistência ao estresse, a diferenciação de xilema e o retardamento da abscisão das folhas (Fujioka e Sakurai, 1997). Os BR foram descobertos e isolados de sementes, frutas, brotos, folhas, brotos de flor e pólen (Creelman, 1997). Há aproximadamente 60 BR conhecidos atualmente (Fujioka e Yokota, 2003). Os BR poderiam ser utilizados como substâncias anti-estressantes na fase de aclimatização como uma das formas de reduzir o estresse na fase.

Os BR reduziram os efeitos adversos que o déficit hídrico provocou no crescimento de plantas de tomateiro (Núñez, 1995). Kulaeva et al., 1991 demonstraram que os BR protegeram o núcleo e os cloroplastos de segmentos de folhas de cevada expostas ao estresse salino. Braun e Wild, (1984) constataram que os BR estimularam a atividade fotossintética, através da aceleração na fixação de CO₂, incrementando a biossíntese de proteínas e a quantidade de açúcares redutores. Marquardt e Adam, (1991) verificaram o aumento da resistência a infecções patogênicas em plantas de batata tratadas com BR.

O processo de aclimatização é crucial para a obtenção de mudas de alta qualidade, provenientes da cultura de tecidos. A otimização do processo de aclimatização envolve suprimento adequado de nutrientes, uso de substratos adequados, utilização de substâncias reguladoras de crescimento, controle do ambiente de cultivo, entre outros cuidados. A descrição das mudanças morfológicas e anatômicas durante as diversas fases da aclimatização dessas mudas pode fornecer subsídios para o entendimento do processo possibilitando interferências mais efetivas.

O objetivo geral deste trabalho foi verificar o efeito da aplicação de diferentes concentrações de um BR e do uso de dois substratos sobre o crescimento de mudas

micropropagadas do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) 'Imperial' em fase de aclimatização.

Dessa forma pretendeu-se:

1. Avaliar o efeito de diferentes concentrações de um análogo de BR sobre os teores e conteúdos de N, P e K na parte aérea de mudas do abacaxizeiro 'Imperial' cultivadas em dois tipos de substratos, durante o período de aclimatização.
2. Avaliar o efeito de um análogo de BR e de dois substratos no crescimento das plantas de abacaxizeiro e nos teores de N, P, e K da folha "D" do abacaxizeiro 'Imperial'.

2. REVISÃO LITERATURA

2.1. A cultura do abacaxizeiro

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

A cultura do abacaxizeiro ocupa o nono lugar na produção mundial de frutas, com uma produção de 13.527.149 toneladas. O maior produtor de abacaxi do mundo é a Tailândia, com uma produção de 2.311.332 toneladas. O Brasil está em quarto lugar com uma produção de 1,41 milhões de toneladas, área plantada de 53.116 ha (FAO, 2007).

O mercado mundial de exportação de abacaxi movimentou, em 1999, um volume de recursos da ordem de um bilhão de dólares, sendo as Filipinas, a Tailândia e a Costa Rica os principais países exportadores, com um volume de exportação de 582.691; 398.626 e 276.680 toneladas, respectivamente. O Brasil ocupou o sétimo lugar, com um volume exportado de 15.796 toneladas. Os principais países

importadores de abacaxi são os Estados Unidos, a França, a Alemanha e Holanda (FAO, 2000).

O abacaxizeiro é, provavelmente, originário da região compreendida entre 15° N e 30° S de latitude e 40° L e 60°W de longitude, o que inclui as zonas central e sul do Brasil, o nordeste da Argentina e o Paraguai. Estudos de distribuição do gênero *Ananas* indicam que o seu centro de origem é a região da Amazônia compreendida entre 10° N e 10° S de latitude e entre 55° L e 75°W de longitude, por se encontrar nela maior número de espécies identificadas até o momento. Assim, a região Norte do Brasil pode ser considerada um segundo centro de diversificação desse gênero (Reinhardt, 2000).

O abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L) Merrill) é uma planta monocotiledônea, herbácea perene, da família Bromeliaceae, cujas espécies podem ser divididas em relação a seus hábitos, em dois grupos distintos: as epífitas, que crescem sobre outras plantas, e as terrestres, que crescem no solo com suas próprias raízes. Os abacaxizeiros pertencem ao segundo grupo, mais precisamente aos gêneros *Ananas* e *Pseudananas*, mesmo apresentando algumas características das epífitas, como por exemplo, a capacidade de armazenar água tanto no tecido especial de suas folhas como nas axilas destas (Reinhardt, 2000). O abacaxizeiro adulto pode ter até 70-80 folhas, que podem se apresentar espinhosas, lisas ou semi-espinhosas e com espinhos apenas na extremidade (Py, 1969).

O abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L) Merrill) é a mais conhecida espécie da família Bromeliaceae, que conta com cerca de 50 gêneros e 2900 espécies. Outras espécies de *Ananas* e *Pseudananas* apresentam importância para o melhoramento genético do abacaxizeiro. Entretanto, uma série de outras espécies tem importância como planta ornamental, notadamente as bromélias epífitas (Ferreira et al., 1992).

O abacaxizeiro é uma planta de metabolismo ácido crassuláceo (MAC) facultativo, podendo mudar para a fixação fotossintética tipo C₃, quando as condições ecológicas, sobretudo o suprimento hídrico, são favoráveis ao seu desenvolvimento (Reinhardt e Almeida, 1999).

O abacaxizeiro é uma planta de reprodução predominantemente vegetativa. A reprodução sexuada só ocorre quando há polinização cruzada, entre variedades e/ou espécies diferentes, tendo aplicação exclusiva na pesquisa para obtenção de novas

variedades. Em plantios comerciais, não há produção de sementes, devido à autoesterilidade das flores e à formação partenocárpica do fruto (Reinhardt, 1998).

A propagação vegetativa é feita através de mudas denominadas coroa (sobre o fruto), filhote ou mudas do cacho (abaixo do fruto), filhote-rebentão (inserção do pedúnculo no caule) e rebentão (base do caule) (Fauth et al., 1994).

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

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

A abacaxicultura brasileira tem sofrido com a ação de vários patógenos que apresentam influência negativa na produtividade e na qualidade dos frutos. Dentre esses patógenos, destacam-se o *Fusarium subglutinans*, agente causal da fusariose, por encontrar-se presente nas principais regiões produtoras do país, provocando perdas elevadas na produção (Reinhardt, 2000).

A fusariose é a principal doença do abacaxizeiro no Brasil, primeiramente constatada em abacaxizais da cultivar Smooth cayenne, no estado de São Paulo, em 1964. A capacidade do patógeno infectar o material de plantio possibilitou a dispersão da fusariose para as principais regiões produtoras do país. Foi também por meio de mudas infectadas que ela foi, acidentalmente, introduzida na Bolívia, região de Santa Cruz de La Sierra, onde foi detectada em 1992. Após a infecção das mudas pelo patógeno, essa doença causa sérios prejuízos em todo seu ciclo de produção, da inflorescência até a produção dos frutos, afetando seu valor comercial e resultando em perdas elevadas na produção. O *Fusarium subglutinans* pode infectar

40% das mudas, 20% das quais morrem antes de atingir a fase de floração (Reinhardt, 2000).

Em 2003, a Embrapa Mandioca e Fruticultura lançou o primeiro híbrido no Brasil, o PE x SC-56, que é resultante do cruzamento de 'Perolera' com 'Smooth Cayenne', sob a denominação de Abacaxi 'Imperial'. O híbrido apresenta resistência à fusariose e frutos de boa qualidade. É recomendado para plantio em regiões adequadas à abacaxicultura, especialmente onde a fusariose é fator limitante para a produção. Entre as principais características dessa variedade, destaca-se a ausência de espinhos nas folhas, fruto cilíndrico, casca de cor amarela na maturação, pesando em torno de 1,6 kg. A polpa é amarela, com elevado teor de açúcar (14-18°Brix), acidez moderada e excelente sabor. As mesmas recomendações técnicas utilizadas para o cultivo das cultivares tradicionais vêm sendo aplicadas a essa nova variedade (Cabral et al., 2003).

O plantio do abacaxi 'Imperial' pode dispensar a utilização de fungicidas para o controle da fusariose, possibilitando a redução dos custos de produção por hectare. Os frutos podem ser destinados para o mercado de consumo *in natura* ou para industrialização, face às suas características sensoriais e físico-químicas (Cabral, et al., 2003).

2.2. Aclimatização de plantas micropropagadas

Durante as fases da cultura "*in vitro*", as plantas crescem sob condições especiais em ambientes fechados, praticamente sem trocas gasosas, com alta umidade do ar, baixa intensidade luminosa e utilizando açúcares no meio como fonte de carbono e energia (Pospíšilová et al., 1999, Rogalski et al., 2003).

O sucesso da técnica de propagação "*in vitro*" requer que as plantas desenvolvidas heterotroficamente e sob condições de alta umidade (90-100%), posteriormente se adaptem, tornando-se autotróficas passando a crescer sob condições de moderada ou baixa umidade (Zimmerman, 1988). Tradicionalmente, a

aclimação “*ex vitro*” das plantas micropropagadas é realizada segundo a concepção na qual, progressivamente, promove-se o incremento na irradiância mantendo-se, inicialmente, alta umidade relativa do ambiente logo após o transplante, com gradativa redução da mesma, até que a fase de endurecimento se complete (Campostrini e Otoni, 1996).

As plantas têm, em geral, um mecanismo heterotrófico, com sua fonte de carbono e energia proveniente de componentes do meio de cultura, como a sacarose. Há citações de que a capacidade fotossintética das folhas de brotações micropropagadas é menor do que aquela que ocorre em folhas cultivadas dentro da estufa e, portanto, muito inferior àquela que ocorre em condições de campo. A fotossíntese pode ocorrer, mas em geral é limitada pela baixa concentração de CO₂ no interior do recipiente. No ambiente de cultivo “*in vitro*”, as condições para fotossíntese parecem ser subótimas, devido à pouca luminosidade (1 a 10 % de intensidade luminosa a pleno sol), troca limitada de gases e altos níveis de açúcares exógenos (Pasqual, 2001).

As mudas de abacaxizeiro provenientes do cultivo “*in vitro*” são pequenas (menos de 5 cm) quando transplantadas, necessitando aumentar o seu tamanho para serem utilizadas. Além disso, as raízes formadas “*in vitro*” não são funcionais quando transplantadas, por isso novas raízes precisam se desenvolver e se tornarem aptas para absorver água do solo. A fase de aclimatização é necessária para que a planta se adapte à nova condição de ambiente e se desenvolva antes de ser levada a campo (Moreira, 2001).

Durante as primeiras duas semanas depois do transplante, é necessário controlar adequadamente os fatores ambientais e praticamente simular, neste período, as condições do ambiente “*in vitro*”, até que as plantas se adaptem às novas condições. Para evitar o excesso de transpiração das plântulas, até que elas consigam um adequado desenvolvimento dos estômatos e da cutícula, é necessário manter uma alta umidade relativa. O método mais utilizado é a nebulização, todavia, este método de incremento de umidade beneficia o desenvolvimento de algumas algas e, sobretudo, de microrganismos, principalmente os fungos que afetam a sanidade das plantas. O outro método utilizado se baseia na colocação de

cobertores de polietileno e outros materiais sobre as plantas e retirá-los após alguns dias (Ziv, 1995).

A luz é o mais importante de todos os fatores que influem nesta fase e o mais difícil de controlar. Sua grande importância é dada pelo papel que desempenha na fotossíntese, através da qual as plantas realizam todos os processos de síntese e produção de energia, necessários para o crescimento e desenvolvimento (Peñalver et al., 1998).

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

A baixa taxa de sobrevivência na fase de aclimatização limita o uso de técnicas de micropropagação. Em grande parte, foi atribuído à perda de água excessiva de plantas micropropagadas sob baixa umidade relativa, a um funcionamento inadequado dos estômatos. Isto ganhou apoio pelo fato da taxa de perda de água estar relacionada linearmente à abertura dos estômatos, e também porque esta perda ocorreu principalmente pela superfície abaxial onde estão situados os estômatos (Marin et al., 1988).

A perda de água é maior em mudas produzidas “*in vitro*” do que em mudas já aclimatizadas devido à pequena camada epicuticular e ao lento mecanismo de fechamento e abertura de estômatos. A quantidade de cera epicuticular encontrada em plantas sob condições “*in vitro*” chega a ser 25% do total encontrado em plantas crescidas em casa de vegetação, embora a presença de cera epicuticular não seja um indicativo suficiente da sobrevivência das plantas na aclimatização (Sutter et al., 1988). Esses autores afirmam que a alta umidade no interior dos frascos é um dos principais fatores que provocam alterações significativas na estrutura e funcionamento dos tecidos, levando à incapacidade das mudas em controlar as perdas de água. A redução da umidade relativa aumenta a capacidade de resposta dos estômatos, a deposição de ceras epicuticulares e reduz o murchamento após a transferência para o solo.

A baixa sobrevivência de determinadas espécies não se deve apenas à perda excessiva de água. A mudança do metabolismo heterotrófico para o autotrófico é outro fator envolvido que deve ser considerado, uma vez que explantes ou plantas “*in vitro*” apresentam fotossíntese modificada devido a fatores como a baixa irradiância, altos níveis de sacarose e baixo teor de CO₂ disponível, que podem afetar a taxa de sobrevivência “*ex vitro*”. Entretanto, fornecendo-se luz e CO₂ de forma adequada às plantas, estas podem desenvolver o metabolismo autotrófico (Kozai et al., 1988).

Neste contexto, a baixa eficiência do mecanismo heterotrófico tem sido citada como um fator relevante. Um estudo da habilidade fotossintética de plantas micropropagadas e sua evolução durante a aclimatização pode dar indicações confiáveis das causas de morte das plantas nesta etapa. A atividade da Rubisco (Ribulose 1,5 bifosfato carboxilase/oxigenase), enzima fixadora de carbono na fotossíntese, é reduzida pela presença de sacarose no meio de cultura. Estudos envolvendo meios livres de sacarose permitiram observar que os mesmos foram mais eficientes na produção de mudas com maior capacidade de aclimatização. Além da isenção da sacarose no meio, o fornecimento de CO₂ e elevadas intensidades luminosas favorecem o desenvolvimento do autotrofismo antes mesmo da transferência, de forma a não requerer das plantas um processo adicional de aclimatização. Tem sido sugerido que uma vez que as plantas “*in vitro*” têm uma certa habilidade fotossintética e desenvolvem autotrofismo, na presença de fatores físicos do ambiente como o CO₂ e luz, a sacarose não é necessária. Assim, é conceituada a cultura de tecidos autotrófica (livre de açúcar) e a mixotrófica (intermediária). O problema oriundo desta modalidade de aclimatização é que a composição de nutrientes do meio deve ser alterada quando não se utiliza açúcar, devendo-se diminuir as concentrações de sais. Após a transferência, a manutenção da elevada umidade do ar, que favorece a fotossíntese, pode novamente levar a concentração sub ótima de CO₂ nesta fase em que a fotossíntese passa ser a única fonte de carbono (Pasqual, 2001).

A taxa fotossintética de algumas plantas micropropagadas tais como o morango, é tida como baixa, com as folhas servindo mais como fonte de nutrientes ou como órgãos de reserva. Porém, tem-se observado que, fornecidas as condições adequadas, a fotossíntese ocorre. As folhas de morango formadas “*in vitro*”

apresentam fotossíntese ‘*in*’ e ‘*ex vitro*’. Estas folhas, além de servirem como fonte de nutrientes para novas folhas, têm um papel importante na fotossíntese e, portanto, na promoção do crescimento autotrófico das plântulas. Logo, é importante maximizar a capacidade fotossintética das folhas formadas “*in vitro*” (Pasqual, 2001).

Durante os primeiros dias após o transplântio para estufas, plantas micropropagadas têm apenas folhas produzidas “*in vitro*” e esta é a única fonte para suprir as demandas metabólicas, sustentar a adaptação das plantas e promover o desenvolvimento. As folhas podem diferir, dependendo da espécie e das condições a que foram submetidas “*in vitro*”. Van Huylenbroeck et al. (1998) descrevem dois grupos principais de folhas. Segundo estes autores, em *Calathea* as folhas produzidas “*in vitro*” funcionam como órgãos de armazenamento acumulando reservas (glicose, frutose), que são consumidas durante os primeiros dias após a transferência, até que folhas novas aparecem. As folhas “*in vitro*” nunca vão se tornar completamente autotróficas. Em *Spathiphyllum* ocorreu o contrário: as folhas produzidas “*in vitro*” continuaram fotossintetizando e foram observadas relações fonte-dreno normais. O excesso de fotossimilados ao término do fotoperíodo foi convertido em amido. Três semanas depois da transferência, essas folhas começaram a senescer e rapidamente desenvolveram folhas novas que iriam se tornar a fonte principal de carboidrato. Em ambas as espécies de plantas, atividades fotossintéticas mais altas foram determinadas em folhas novas completamente desenvolvidas.

O método convencional de micropropagação consiste no enraizamento “*in vitro*” de brotos em meio geleificado e posterior transferência dos brotos enraizados para casa-de-vegetação. Porém, o sistema radicular adventício emitido em meio semi-solidificado com ágar ou produto equivalente é, em geral, pouco ramificado, quebradiço e isento de pêlos radiculares, de modo que as raízes assim formadas podem ser pouco eficientes na absorção de água e nutrientes durante a aclimatização (Zimmerman, 1981). Hoffmann et al. (2001) também apontam a baixa qualidade da raiz formada em meio semi-solidificado como uma das causas da baixa sobrevivência das plantas durante a aclimatização, além de ser o componente de maior custo do meio de cultura.

Piza et al. (2001), pesquisando reguladores vegetais na micropropagação do abacaxizeiro, concluíram que os fitorreguladores benzil adenina purina (BAP) uma citocinina sintética e ácido α -naftaleno acético (ANA) uma auxina sintética são necessários para a fase de estabelecimento e multiplicação “*in vitro*” de gemas de abacaxizeiro e o uso de 2 mg L⁻¹ de BAP e 1 mg L⁻¹ ANA combinados em meio MS induzem melhor sobrevivência, desenvolvimento e multiplicação, enquanto, para o enraizamento, o meio MS suplementado com 2 mg L⁻¹ de ANA é o mais eficiente.

A atividade do fitoregulador vai depender da sua concentração e estabilidade no meio de cultura durante a preparação e esterilização do meio e, também, da translocação e metabolismo dos fitoreguladores nos tecidos durante o período de cultivo *ex vitro* (Tagliacozzo, 1998).

A auxina é o principal regulador de crescimento relacionado com o enraizamento. As principais auxinas utilizadas com esta finalidade são o AIB (ácido indolbutírico), AIA (ácido indolacético), ANA (ácido naftalenoacético), entre outros (Pasqual, 2001).

Plantas enraizadas “*ex vitro*” são muito susceptíveis a danos por fungos, sendo necessários tratamentos com fungicidas de largo espectro. Plantas enraizadas “*in vitro*” devem, também, sofrer os mesmos tratamentos. O tratamento com fungicidas também é utilizado por laboratórios no momento da expedição das plantas. Nessa ocasião, a parte aérea é pulverizada e o substrato encharcado com a solução. É mostrado, na literatura, que diversos fungicidas têm sido utilizados com sucesso, como dichlofuanide, propanocarb, captan, iprodione, thiram, metalaxil, mancozeb, etridiazole e zineb, entre outros. As dosagens de aplicação devem ser, geralmente, menores que as recomendadas pelo fabricante, em função das plantas obtidas por cultura de tecidos terem a cutícula mal formada, sendo, assim, mais sensíveis. Os fungicidas devem ser aplicados a intervalos de 10 a 14 dias, procurando-se alternar o princípio ativo usado, com a finalidade de ampliar o espectro de ação. Nos primeiros estágios da aclimatização, os produtos podem prejudicar a folhagem das plantas, aplicações mais seguras acontecem após 2 ou 3 semanas. Quando se está trabalhando com uma nova espécie, da qual não se tem conhecimento da sensibilidade aos fungicidas, é necessário proceder a testes prévios (Pasqual, 2001).

2.3. Substratos

A utilização de mudas de boa qualidade é, sem dúvida, um importante fator de sucesso na implantação de pomares. A qualidade da muda de fruteiras é definida pelas suas condições internas e características externas, sendo que as primeiras estão ligadas às características genéticas, pouco se alterando com as características do ambiente e/ou tratamentos aplicados, enquanto que as características externas podem sofrer influência significativa do meio e dos tratamentos que lhe são aplicados. Dentre os fatores que interferem nas características da muda, está a fertilidade do substrato, envolvendo características como disponibilidade de nutrientes, capacidade de retenção de água, porosidade, microrganismos (Souza, 1983).

Os substratos são materiais sólidos e porosos de origem natural ou sintética, que, sozinhos ou combinados, garantem um adequado crescimento das plantas, em ambientes controlados (Abad, 1989). Os substratos têm como função dar à planta sustentação e permitir a aeração e a entrada de água para as raízes (ter boa porosidade), este pode ou não intervir no complexo processo de nutrição vegetal.

A escolha de um substrato adequado é uma das técnicas estudadas no sentido de não se perder plantas na fase de aclimatização. O substrato é um fator importante e os mais utilizados são a vermiculita, a perlita, a areia, a turfa, a casca de eucalipto ou de pinheiro do gênero *Pinus* curtida, a palha de arroz carbonizada e o pó de carvão cujas proporções variam conforme a espécie. É comum adicionar fertilizantes ao substrato para suprir as necessidades iniciais da cultura, e, dependendo do tempo necessário para completar o crescimento, podem ser feitas adubações com soluções nutritivas em cobertura, via irrigação ou por aplicações foliares (Grattapaglia e Machado, 1998).

Na opção por um determinado substrato, objetiva-se otimizar as condições ambientais para o desenvolvimento da planta em uma ou mais etapas da propagação. Se utilizado um material adequado e as demais condições também forem satisfeitas, o desenvolvimento da muda será satisfatório, tendo-se como resultado a obtenção de uma planta com capacidade de expressar futuramente o potencial produtivo da cultivar. Por outro lado, o uso de materiais inadequados, além da sua ineficiência nos métodos de propagação, originará plantas com problemas de desenvolvimento e com reflexos negativos sobre a futura produção (Moreira, 2001).

Em linha geral, um bom substrato é aquele que é firme e denso o suficiente para manter a estrutura de propagação, em condições até a germinação ou enraizamento, que não encolha ou expanda com a variação da umidade, que retenha água em quantidade suficiente, que seja suficientemente poroso para permitir a drenagem da água e aeração, e se apresente livre de invasoras, nematóides e outros patógenos. Além disso, não deve apresentar um nível excessivo de salinidade e deve permitir a esterilização por vapor (Hoffmann, 1999).

Um dos requisitos importantes que um substrato deve cumprir para sua utilização é a sanidade. Quando os substratos são elaborados, armazenados ou manejados incorretamente podem contaminar-se e provocar sérios danos às plantas durante a aclimatização. Por esta razão prefere-se, como componentes para elaboração dos substratos, materiais inertes como a zeolita e aqueles em que o processo de obtenção garanta a maior sanidade possível, como é o caso de materiais compostados e do húmus de minhoca (Peñalver et al., 1998).

A escolha do substrato apropriado pode ser decisiva para aclimatização. O substrato deve ser de baixa densidade, rico em nutrientes, composição química equilibrada e física uniforme, boa aeração, boa drenagem, boa coesão entre as partículas e raízes, e estar, preferencialmente, isento de plantas daninhas e com boa flora bacteriana (Coutinho e Carvalho 1983, Silva et al., 2003).

O substrato é o meio de sustentação ou suporte durante o cultivo “in vitro” e aclimatização das plantas. Também é um fator externo de marcada influência no processo de enraizamento adventício e sobre a qualidade das raízes formadas, desempenhando papel importante na sobrevivência e desenvolvimento inicial da nova planta. O substrato afeta, principalmente, a aeração. Além disso, pode afetar o

escurecimento do ambiente de enraizamento, pH, umidade e resistência física ao crescimento das raízes, entre outros (George, 1993, Hoffmann et al., 2001).

A acidez do substrato pode atuar de maneira direta sobre as plantas, ocasionando injúrias, ou de forma indireta, afetando a disponibilidade de nutrientes, produzindo condições bióticas desfavoráveis à fixação do nitrogênio, à atividade de micorrizas, ou ainda aumentando a infecção por alguns patógenos (Santos et al., 2000).

Muitos são os materiais que podem ser utilizados como substrato, sejam eles puros ou em misturas, podendo-se citar alguns como a vermiculita, o composto orgânico, a terra de subsolo, o esterco bovino, a moinha de carvão, a areia, a casca de árvores, o composto de lixo, a serragem, o bagaço de cana, a acícula de pinus e outros (Fonseca, 1998; Gomes e Silva, 2004).

Gualberto et al. (2000) compararam diversos substratos comerciais para a produção de mudas de cafeeiro e concluíram que nos substratos Plantmax® e Mecplant®, as mudas obtiveram maior altura, maior massa seca da parte aérea e maior massa seca do sistema radicular.

Rodrigues et al. (2003) demonstraram o desempenho superior do substrato Plantmax® e areia lavada na aclimatização de mudas micropropagadas de helicônia em relação à vermiculita. Zemke et al. (2003), avaliando substratos para inoculação micorrízica e aclimatização de dois porta-enxertos de videira micropropagados, concluíram que o substrato comercial Plantmax® aumentou a biomassa vegetal, apesar de diminuir a colonização micorrízica quando comparado à vermiculita, composto termofílico, nitossolo vermelho distroférico e casca de arroz carbonizada. Segundo Pereira et al. (2003), avaliando substratos para aclimatização de abacaxi ornamental micropropagado, as mudas aclimatizadas no substrato Plantmax® obtiveram uma taxa de sobrevivência de 96, 67%, que foi superior as taxas obtidas no substrato vermiculita, pó de coco e composto de tegumento de amêndoa de cacau.

O composto orgânico é o material resultante da decomposição de restos vegetais e/ou animais, sendo que o processo da compostagem consiste em amontoar esses resíduos e mediante tratamentos químicos ou não, acelerar a sua decomposição, mediante um controle sistemático da temperatura e umidade (Gomes e Silva, 2004).

Substratos alternativos de origem vegetal têm sido recomendados para a produção de mudas e o cultivo de plantas envasadas em substituição ao solo (Souza, 2001). Esses resíduos poderiam ser misturados à vermiculita, que é amplamente utilizada nos viveiros (Weber et al., 2003).

O substrato Húmus Comercial destacou-se quanto ao desenvolvimento geral das mudas de pepino e tomate, apresentando valores mais adequados de espaço poroso total, porosidade de aeração, o que provavelmente proporcionou melhor arejamento das raízes. O húmus é uma alternativa de substrato para ser utilizado na produção de mudas orgânicas (Fabri et al., 2005).

O bagaço de cana-de-açúcar, com produção de cerca de 250 kg t⁻¹ de cana moída, é pobre em elementos minerais, por isso é recomendada sua compostagem em misturas com torta de filtro e outros materiais. Já a torta de filtro, resíduo proveniente da filtração a vácuo no processo de fabricação do açúcar, é rica em fósforo, cálcio e matéria orgânica e pobre em potássio. Além disso, apresenta elevada umidade (Leme, 1993). Calcula-se que a produção de torta de filtro situa-se em torno de 40 kg t⁻¹ de cana moída. A relação C:N de 17:1 e o teor de N em torno de 13,3 g kg⁻¹, em relação ao peso seco, são favoráveis a uma rápida decomposição da matéria orgânica (Kiehl, 1985).

Serrano (2003) utilizou substrato comercial composto por casca de *Pinus* e substrato composto por uma mistura entre bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro, (3:2;v:v), para produção do porta-enxerto limoeiro 'Cravo'. Na produção do porta-enxerto em tubetes preenchidos com substrato composto por bagaço de cana-de-açúcar + torta de filtro, (3:2;v:v) não houve o surgimento de plantas com deformação no sistema radicular e mesmo promoveu maior crescimento das plantas e teores adequados de N,P,K, Ca,Mn,Zn,Fe e B nas folhas em relação ao plantmax®.

O cultivo em recipientes requer irrigações e fertilizações freqüentes e, para tanto, faz-se necessário o conhecimento das propriedades químicas e físicas dos substratos, por serem fatores determinantes no manejo e no controle de qualidade dos cultivos (Schmitz et al., 2002).

De acordo com a literatura, a utilização de bagaço-de-cana na produção de mudas é promissor. Os restos vegetais como esse podem ser utilizados na

produção de composto orgânico, trazendo vantagens ao processo de produção de mudas (Gomes e Silva, 2004).

Testando diferentes resíduos agro-industriais prensados como substrato para a produção de mudas de *Eucalyptus grandis*, Morgado (1998) constatou que a mistura formada por 60% de bagaço-de-cana e 40% de torta de filtro foi a que melhor se adequou à produção. Barroso (1999) testou três substratos na confecção de blocos prensados e para enchimento de tubetes para semeadura de duas espécies de *Eucalyptus*, concluiu que o substrato composto pela mistura entre bagaço de cana e torta de filtro de usina açucareira pode ser indicado para a produção de mudas de *Eucalyptus*, pois produziu mudas com adequadas características morfofisiológicas e com bom desempenho após plantio.

Schiavo (2001) utilizou blocos prensados compostos pela mistura de bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro + vermiculita e concluiu que este substrato pode ser utilizado para a produção de mudas de goiaba e acácia. Serrano et al., (2006) verificaram que o substrato composto pela mistura entre bagaço de cana permite a redução dos níveis de adubação de N, P, e K em relação ao substrato comercial composto por casca de pinus moída e vermiculita na produção do porta-enxerto limoeiro 'Cravo'.

2.4. Características morfológicas das mudas micropropagadas

Durante o cultivo "*in vitro*", as plantas crescem em um ambiente com alta umidade relativa, baixa intensidade luminosa, temperatura constante, intercâmbio gasoso escasso e meio rico em compostos orgânicos, principalmente a sacarose. Estas condições provocam mudanças na morfologia e na fisiologia das plantas, que diferem daquelas crescidas em casas de vegetação ou no campo (Peñalver et al., 1998).

O ambiente "*in vitro*" afeta a morfogênese dos explantes que coduz, algumas vezes, a conseqüências negativas para o crescimento e desenvolvimento das

culturas, comprometendo, assim, a obtenção de taxas de estabelecimento e de multiplicação satisfatórias (Campostrini e Otoni, 1996).

Os brotos obtidos via micropropagação convencional apresentam pequena taxa de crescimento, grande variação em tamanho, forma e estágio de desenvolvimento (Kozai et al., 1995). A anatomia interna e a ultraestrutura das plantas regeneradas “*in vitro*” são, geralmente, diferentes daquelas cultivadas em casa de vegetação ou no campo.

Comparativamente às plantas desenvolvidas *in vivo*, as plantas micropropagadas, em geral, apresentam-se pouco lignificadas, com células de parede pouco espessadas, com abundância de espaços intercelulares, sistema vascular pouco desenvolvido e reduzida quantidade de tecidos de sustentação (esclerênquima e colênquima), estando sujeitas a desordens morfológicas e fisiológicas (Ziv et al., 1987).

O fenótipo das plantas que crescem “*in vitro*” é caracterizado por apresentar caules mais curtos e delgados, menor quantidade de cera epicuticular, redução dos tecidos de suporte, incremento do conteúdo de água nas células, pequena capacidade fotossintética, estômatos com baixa funcionalidade e crescimento heterotrófico ou mixotrófico. Tudo indica que as mudanças fenotípicas são induzidas pelas condições ambientais no interior do recipiente de cultivo “*in vitro*”, podendo ser uma resposta à ausência das condições estressantes que se apresentam nas casas de vegetação e no campo (Denng e Donnelly, 1993).

Segundo Pasqual (2001), as características das folhas oriundas do cultivo “*in vitro*”, especialmente no que se refere à sua anatomia, têm reflexo sobre a elevada perda de água quando da aclimatização. As folhas de plantas micropropagadas apresentam pouca quantidade de ceras epicuticulares, cutícula mais fina e baixa habilidade dos estômatos fecharem-se sob condições de baixa umidade relativa do ar.

Há indicações de que os estômatos das folhas de plantas micropropagadas têm estrutura similar às desenvolvidas em ambiente externo ainda que apresentem células-guardas mais ricas em amido e cloroplasto. A densidade estomática tende a ser menor em plantas em fase de aclimatização, comparada com as plantas

desenvolvidas no campo (150 e 300 estômatos/mm³, respectivamente) (Pasqual, 2001).

Alguns trabalhos indicam que existem diferenças anatômicas e fisiológicas entre estômatos de plantas micropropagadas e de plantas cultivadas em estufa. Porém, faltam informações em relação às possíveis diferenças histoquímicas e como estes parâmetros poderiam mudar no processo de aclimatização e sua relação com a funcionalidade dos estômatos (Donnelly e Vidaver, 1984). Segundo Marin et al. (1988), existem diferenças ultraestruturais entre estômatos de diferentes tipos de folhas, indicando um estado não funcional em folhas de plantas "*in vitro*". Porém, este estado não funcional é, até certo ponto, reversível em uma folha já que este estado se reverte quando folhas novas se diferenciarem nas novas condições ambientais.

Foi observado que as folhas originárias do cultivo "*in vitro*" têm uma menor densidade de células do mesófilo e apenas uma camada do parênquima paliçádico. Observou-se, também, que o espaço aéreo do mesófilo foi maior em planta de ameixeira em aclimatização do que nas plantas desenvolvidas no campo. Entretanto, o comprimento das células epidérmicas (superiores e inferiores) não foi afetado. Brotações obtidas por micropropagação têm reduzido o tamanho das células se comparadas a brotações de plantas desenvolvidas em estufa. A quantidade de tecido vascular também é menor quando são plantas obtidas "*in vitro*", tendo como efeito uma menor eficiência na translocação de água facilitando a ocorrência de estresse hídrico. Em um estudo de anatomia de framboeseira antes e após a aclimatização, foi observado que as plantas formadas "*in vitro*" foram menores, mais finas, com arranjo menos compacto das células do parênquima paliçádico e do mesófilo e menor número de pêlos da epiderme. A presença de pêlos, em geral, associada a uma menor perda de água, reduz a morte das plantas por estresse hídrico (Pasqual, 2001).

Segundo Pospisilová et al. (1999), as anormalidades na morfologia, anatomia e fisiologia de plântulas cultivadas "*in vitro*" podem ser corrigidas depois que as plântulas são transferidas para condições "*ex vitro*". Porém, para qualquer espécie de planta, as mudanças das condições ambientais devem ser graduais para evitar perdas por dessecação e por fotoinibição. Durante a aclimatização a espessura de

folha geralmente aumenta, observam-se progressos de mesófilo de folha e diferenciação em parênquima paliçádico e parênquima esponjoso, a densidade de estômatos diminui e sua forma muda de circular para elíptico. As mudanças mais importantes incluem desenvolvimento de cutícula, cera epicuticular e regulação efetiva da transpiração que conduz à estabilização do estado hídrico da plântula.

Todas essas mudanças fazem com que grande parte das plantas micropropagadas não sobreviva ao transplante para novas condições ambientais, tornando necessária a aplicação de técnicas de aclimatização “in vitro” e “ex vitro” para garantir um retorno gradual de suas características morfológicas normais. A fase de aclimatização é fundamental para a propagação comercial, já que é do resultado desta fase que dependerá a qualidade final das plantas e a eficiência total do processo (Peñalver et al., 1998).

2.5. Brassinosteróides (BR)

No início dos anos 70, Mitchell et al. (1970) verificaram que extratos orgânicos obtidos do pólen de *Brassica napus* promoveram alongamento de talo e divisão de células em plantas. O anúncio de que o componente ativo destes extratos era um esteróide promissor estimulou o interesse da pesquisa internacional na química e fisiologia dos reguladores de crescimento de planta. Após análise das publicações referentes aos BR, Mandava (1988) concluiu que poderiam ser considerados como um grupo novo de hormônios de planta com a função de regulador no alongamento e divisão de células.

Os BR vêm sendo testados com o objetivo de determinar sua atividade promotora de crescimento. Foram realizados inúmeros bioensaios típicos para atividade de auxinas citocininas e giberelinas (Marquardt e Adam, 1991).

Em vários sistemas os, BR interagem fortemente de forma sinérgica com as auxinas. Por outro lado, as respostas dos BR e das giberelinas parecem ser ambas independentes e aditivas. De acordo com estes autores, os BR podem funcionar de

forma similar às auxinas em um momento e similar às giberelinas ou citocininas em outro.

Com relação à atividade destes compostos em bioensaios típicos para auxinas, Yopp et al. (1981) provaram a atividade biológica do brassinolídeo em comparação com as auxinas em diversos bioensaios. Verificaram que o brassinolídio estimulou respostas similares às mostradas pelas auxinas em bioensaios com hipocótilo de feijão, alongamento do mesocótilo de milho e de segmentos de epicótilo de feijão Azuki e ganho de massa fresca em tecido envelhecido de *Helianthus tuberosus*. Todavia, eles também observaram que o brassinolídio não foi efetivo nos bioensaios clássicos para auxinas, relacionados com a inibição do crescimento de gemas laterais em ervilhas decapitadas.

Entre os tecidos vegetais, os tecidos jovens em crescimento possuem conteúdos superiores de BR em comparação aos tecidos velhos (Takatsuto, 1994). Shimada et al. (2003) relataram que o principal local de síntese de BR está localizado nos órgãos em desenvolvimento, como nas regiões meristemáticas.

Cortes et al. (2003) relataram que os BR são encontrados naturalmente nas plantas em baixas concentrações. Assim, foram sintetizados os análogos de BR para possível uso comercial.

Para que ocorra a expansão celular, sem que haja perda da integridade da plasmalema, deve haver aumento da entrada de água na célula, com concomitante afrouxamento da parede celular. Os BR podem controlar a atividade das aquaporinas presentes na membrana plasmática e, desta forma, aumentar a permeabilidade à água (Morillon et al., 2001), além disso, são capazes de promover aumento na transcrição de RNAm, que codificam enzimas do tipo xiloglicano endotrasglicosilases (Catalá et al., 1997), sendo que estas atuam no enfraquecimento da união dos xiloglicanos existentes com as microfibrilas de celulose, dado sua ação sobre os compostos xiloglicanos existentes entre as microfibrilas (Coscogrove, 2000).

Segundo Mandava (1988), de forma geral os BR têm atividade em concentrações muito mais baixas (nM a pM) que as concentrações eficientes para giberelinas (mM). Este mesmo autor destaca, além disso, que, em sistemas de ensaios que requerem escuro, o brassinolídeo geralmente não causa um incremento

significativo no crescimento. Um exemplo claro são os coleóptilos de aveia que são insensíveis ao brassinolídio em ensaios conduzidos no escuro, porém em ensaios conduzidos na presença de luz, os coleóptilos respondem ao brassinolídio da mesma forma que às auxinas. Pode-se destacar que estudos do crescimento induzido pelo brassinolídio em feijão nos permitem enfatizar a importância da energia e da qualidade do espectro de luz fornecido neste processo, já que este pode ser correlacionado com o conteúdo de clorofilas e assimilação de fotossimilados.

Os BR podem ser misturados com materiais sólidos (como talco, mica, barro), pastas (como lanolina) ou líquidos (normalmente água ou misturas hidroalcoólicas) para uso como pó, peletes, tabletes, pastas, suspensões, soluções na presença ou não de emulsificadores que ajudam a homogeneizar a preparação. A aplicação pode ser feita borrifando, espalhando, revestindo ou imergindo as plantas, os órgãos ou até mesmo o solo. A quantidade de BR a ser aplicada varia com a estrutura do BR, com a formulação a ser empregada, o tipo de planta a ser tratada e o efeito que se deseja obter. De forma geral, as concentrações mais adequadas oscilam entre 0,1 e 1 mg. L⁻¹, ou seja, entre 10 e 100 mg ha⁻¹, evidenciando a efetividade dos BR em baixas concentrações, podendo ser aplicado com outros agro-químicos, semelhantes a outros hormônios ou reguladores de crescimento, fertilizantes, herbicidas, inseticidas e outros adjuvantes (Zullo e Adam, 2002).

A utilização da formulação denominada BIOBRAS-16 (BB-16) a nível experimental e em condições de campo foi relatada por diversos autores. Foi demonstrada a efetividade desta formulação em hortaliças (Núñez, et al., 1994); batata (Rosales, et al., 1995); milho (Almenares, et al., 1999); tabaco (Pita, et al., 1998) e pastagens (Miralba e Herrera, 1998).

Os BR promovem a regeneração adventícia de brotos de segmentos de hipocótilo de couve-flor. Segundo Sasaki (2002), quando segmentos de hipocótilo de couve-flor foram cultivados em meio MS contendo brassinolídeo e na presença de luz, foi observada a ocorrência de regeneração significativa de brotos adventícios. Segundo Campos et al. (2003), em maracujazeiro, estacas de *Passiflora giberti* tratadas com BR apresentaram raízes mais longas em relação ao controle e o tratamento com ácido indolbutírico (AIB).

Os BR têm sido utilizados com bons resultados, na diferenciação de calos de batata (Hernández, 1994); na multiplicação “*in vitro*” de jojoba (Noriega et al., 1994) e na aclimatização de plantas de mamão e batata micropropagadas (Gómez , 1996).

Vázquez et al. (2000) estudaram a influência dos BR na abertura estomática. Os autores determinaram o efeito do 2,4- epibrassinolídeo (24-epiBL) na abertura estomática e concluíram que a substância inibiu este processo na epiderme de *Commelina*. O 2,4- epiBL demonstrou efeito no crescimento de mudas de arroz cultivadas em condições de tensão de sal. Observaram, também, efeitos em relação à atividade antioxidativa, peroxidação de lipídios, prolina e conteúdo de proteína solúvel em mudas de arroz IR-28, sensíveis ao estresse salino (Ozdemir et al., 2004).

A possível relação existente entre a maior tolerância das plantas ao estresse, estimulada pelos BR, pode estar nas modificações que estes promovem na composição química das membranas (Vázquez et al., 2000). Foi demonstrada que a inibição da peroxidação dos lipídios estimulada pelo epibrassinolídeo contribuiu para melhor manutenção e estabilidade da membrana, o que pode estar relacionado à maior resistência observada das plantas ao estresse.

Os BR geralmente aumentam a resistência de plantas ao estresse e a fitopatógenos. As aplicações potenciais de BR em agricultura não só são baseadas na habilidade deles para aumentar rendimento das culturas, mas também de estimular outros processos fisiológicos, podendo tornar possível o cultivo de plantas sob condições desfavoráveis (estressantes) tais como, alta salinidade, seca ou deficiência de nutrientes. Embora, por algum tempo, os BR fossem conhecidos apenas por suas propriedades “anti-estressantes”, recentemente foram empreendidas investigações sistemáticas no potencial dos BR para aumentar resistência de plantas a doenças. Entre os resultados obtidos, a maioria dos dados está relacionada à influência de BR em relação a fungos fitopatogênicos (Khripach et al., 2000).

O desenvolvimento de novas pesquisas com os BR relativas à atividade fisiológica, à compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos, ao conhecimento da síntese natural e artificial poderão permitir o emprego destas

substâncias em maior escala em práticas agrícolas, devido às características peculiares que estes apresentam, promovendo o crescimento de plantas, aumentando o rendimento de colheita e conferindo às plantas maior resistência ao estresse biótico e abiótico. Além disso, trata-se, potencialmente, de um dos mais ecológicos (por serem utilizados em baixíssimas concentrações) e seguros promotores de crescimento de plantas (Zullo e Adam, 2002).

Existem, relativamente, poucos trabalhos que relatam os detalhes do procedimento de transplântio e aclimatização, as dificuldades e as soluções encontradas durante este processo. Esta carência de informações é ainda maior no caso de grandes quantidades de plantas, num sistema comercial de micropropagação. Embora existam algumas regras gerais (manutenção da alta umidade e temperatura amena), a experiência individual, a familiarização com a cultura, a escala de trabalho e as facilidades disponíveis são os principais fatores que determinam a otimização desta fase (Grattapaglia e Machado, 1998).

2. TRABALHOS

2.1. BRASSINOSTERÓIDE E SUBSTRATOS: EFEITOS NO CRESCIMENTO E NOS TEORES DE NUTRIENTES DO ABACAXIZEIRO EM FASE DE ACLIMATIZAÇÃO

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de diferentes concentrações de um análogo de brassinosteróide (BS) e de dois substratos sobre o crescimento e sobre os teores e conteúdos de N, P e K na parte aérea de mudas micropropagadas do abacaxizeiro 'Imperial' na fase de aclimatização. O experimento foi conduzido em DBC, em esquema fatorial 5 x 2 x 4, no qual foram avaliados cinco concentrações do BS (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1 mg L⁻¹), dois tipos de substratos (Plantmax® e outro substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção 3:2, v:v - BT) e quatro épocas de amostragem (60, 90, 120 e 150 dias após plantio). As plântulas foram transferidas do meio de cultura para tubetes cônicos em casa de vegetação equipada com nebulizadores intermitentes. As plantas cultivadas no substrato BT e pulverizadas com 0,1 mg L⁻¹ do BS apresentaram maior crescimento da parte aérea com maior número de folhas, diâmetro de roseta, largura de folha, massa fresca e massa seca, aos 150 dias após plantio. Nas plantas cultivadas no substrato BT, as pulverizações com o BS a 0,1 mg L⁻¹ proporcionaram acúmulo de matéria seca 2,8 vezes superior ao valor da testemunha cultivada no substrato Plantmax®. As massas fresca e seca de raízes foram superiores no substrato Plantmax® em relação ao BT. Aos 60 dias após o plantio, as plantas tratadas com o BS nas concentrações de 0,1 até 1 mg L⁻¹ e cultivadas no substrato BT apresentaram maiores teores de N, P e K

na parte aérea. As mudas cultivadas no substrato Plantmax® apresentaram maiores teores de K, aos 90 dias, quando tratadas com as concentrações de 0,1 até 1 mg L⁻¹. O maior crescimento da parte aérea foi observado nas concentrações de 0,1 e 1,0 mg L⁻¹ do BS para mudas cultivadas no substrato BT e 0,3 e 0,5 mg L⁻¹ para mudas cultivadas no substrato Plantmax®.

Palavras chave: *Ananas comosus*, 'Imperial', BIOBRAS-16, Regulador de crescimento, nutrição mineral.

ABSTRACT

BRASSINOSTEROID AND SUBSTRATES IN RELATION TO NUTRIENT LEVELS OF PINEAPPLE PLANTS IN ACCLIMATIZATION

This work aimed to evaluate the effects of different brassinoesteroid (BS) concentrations and two substrates on the growth of micropropagated seedlings in N, P and K contents of "Imperial" pineapple in acclimatization phase. It was used a randomized block design in a 5 x 2 x 4 factorial arrangement, which were evaluated five concentrations of BS (0; 0.1; 0.3; 0.5 and 1mgL⁻¹), two types of substrates (Plantmax® and crushed sugar-cane + filter cake - CC), and four sampling periods (60, 90, 120 and 150 days after planting). The seedlings were transplanted to small conic tubes and allocated in a greenhouse equipped with an intermittent mist. The plants cultivated in CC substrate and sprayed with 0.1mg L⁻¹ of BS showed higher growth of shoots with major number of leaves, diameter of rosette, leaves wideness, fresh and dry matter production at 150 days after planting. The plants that were cultivated on CC substrate and sprayed with BS at a 0.1mgL⁻¹ produced 2.8 times more dry matter than the control cultivated in substrate Plantmax®. The fresh and dry matter of roots were superior in Plantmax® when compared to CC at late sampling periods. At 60 days after planting, plants treated by BS in concentration from 0,1 to

1 mgL⁻¹, and cultivated in BT substrates showed higher levels of N, P and K shoot of plants. The seedlings cultivated in Plantmax® substrate showed highest level of K at 90th days, when treated with 0,1 to 1 mgL⁻¹ concentrations..

Key words: *Ananas comosus*, 'Imperial', BIOBRAS-16, growth controlling, mineral nutrition.

INTRODUÇÃO

Muitos são os problemas que têm contribuído para impedir a expansão da abacaxicultura no Brasil, dentre os quais podemos destacar a falta de mudas de boa qualidade e em quantidade suficiente para formação de novas lavouras, ocorrência de pragas e doenças, entre outros (Gottardi et al., 2002).

A obtenção de mudas totalmente livres de pragas e doenças é possível por meio da cultura de tecidos vegetais, a qual permite a obtenção de milhares de mudas a partir de uma única gema, em curto espaço de tempo (Pasqual et al., 1998).

Apesar do grande número de plantas que se obtêm através da micropropagação, esta tecnologia apresenta dois grandes problemas para a maioria das espécies de plantas: baixo percentual de adaptabilidade das plântulas micropropagadas durante a etapa de aclimatização e o longo tempo que essas plantas permanecem nesta fase (González et al., 1997).

A aclimatização das plântulas micropropagadas consiste na retirada e transferência destas do meio de cultivo "*in vitro*" para outro tipo de substrato e ambiente, com o objetivo de promover uma adaptação gradativa. Essa etapa é decisiva devido à perda de vigor e à morte das plantas causada pelo dessecamento. A perda excessiva de água e a mudança do metabolismo heterotrófico para o autotrófico são condições que promovem um estresse nas plântulas (Moreira, 2001). Este estresse é prolongado, uma vez que nas mudas produzidas "*in vitro*" as raízes são, de modo geral, quebradiças, pouco funcionais na absorção de água e

nutrientes, pois existem poucas conexões vasculares entre as raízes e as brotações (Pasqual, 2001), reduzindo as chances de sobrevivência na fase de aclimatização.

Uma das formas de reduzir o estresse nessa fase seria a utilização de substâncias anti-estressantes, como os brassinoesteróides. Os brassinoesteróides (BR) são lactonas polihidroxi-esteróides que ocorrem naturalmente em plantas. Os BR são hormônios vegetais que promovem o alongamento celular, expansão celular, aumentam o gravitropismo, retardam a abscisão de folhas, aumentam a resistência ao estresse e promovem a diferenciação de xilema (Fujioka e Sakurai, 1997). Os BR foram descobertos e isolados de sementes, frutas, brotos, folhas, brotos de flor e pólen (Creelman e Mullet, 1997). Atualmente há, aproximadamente conhecidos, sessenta BR diferentes (Colli, 2004). Os BR reduzem os efeitos adversos provocados pelo déficit hídrico no crescimento de plantas de tomateiro (Núñez, 1995). Protegem o núcleo e os cloroplastos de segmentos de folhas de cevada expostas ao estresse salino (Kulaeva et al., 1991). Estimulam a atividade fotossintética, através da aceleração na fixação de CO₂, incrementando a biossíntese de proteínas e a quantidade de açúcares redutores (Braun e Wild, 1984) e aumentam a resistência a infecções patogênicas em plantas de batata (Marquardt e Adam, 1991). Entretanto, pouco se conhece sobre o efeito dos BR na absorção de nutrientes pelas plantas.

O processo de aclimatização é crucial para a obtenção de mudas de alta qualidade, provenientes da cultura de tecidos. A otimização do processo de aclimatização envolve suprimento de nutrientes, uso de substratos adequados, utilização de substâncias reguladoras de crescimento, controle do ambiente de cultivo, entre outros cuidados.

Assim, esse trabalho teve como objetivo verificar o efeito da aplicação de diferentes concentrações de um brassinosteróide e do uso de dois substratos sobre o crescimento de mudas micropropagadas e sobre os teores e conteúdos de N, P e K na parte aérea de mudas do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) 'Imperial' em fase de aclimatização.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação nas dependências da Escola Técnica Estadual Agrícola Antônio Sarlo, em Campos dos Goytacazes, RJ.

As mudas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) 'Imperial' provenientes de cultura de tecidos foram produzidas pela empresa Campo Biotecnologia Vegetal.

O experimento foi conduzido em DBC, em esquema fatorial 5 x 2 x 4, onde foram avaliados cinco doses de um análogo de brassinosteróide (BS) (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1 mg L⁻¹), dois tipos de substratos (Substrato comercial e outro substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro) e quatro épocas de amostragem (60, 90, 120 e 150 dias após plantio). Foram utilizadas 6 repetições, sendo a parcela constituída por duas plântulas.

As mudas foram transferidas para tubetes com capacidade de 180 cm³ e preenchidos com os substratos, de acordo com o tratamento. Ao substrato Plantmax®, após análise, foram adicionados 50g dm⁻³ de calcário para elevar o pH para 6,0. O substrato BT foi obtido após compostagem de uma mistura entre bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v. Durante o período de compostagem, a mistura foi revolvida e molhada periodicamente com uma solução na concentração de 6 g kg⁻¹ de uréia. Os resultados da análise química dos substratos são apresentados na Tabela 1.

As mudas foram colocadas em casa de vegetação equipada com nebulizadores intermitentes e com sombrite que permitia a passagem de 50% de luminosidade. A umidade relativa do ar foi mantida em torno de 90% durante os 10 primeiros dias após o plantio. Posteriormente, foram transferidas para uma casa de

vegetação com sombrite que permitia a passagem de 75% de luminosidade. A umidade relativa do ar foi gradativamente diminuída através da diminuição do turno de rega até a concretização do processo de aclimatização. Semanalmente, durante todo o período de condução do experimento, foram aplicados, por planta, 5 ml de uma solução na qual a concentração de nutrientes em mg L^{-1} foi a seguinte: N- NO_3^- (112); N- NH_4^+ (3,5); P (7,74); K (156,4); Ca (80); Mg (24,3); S (32,0); Cl (1,77); Mn (0,55); Zn (0,13); Cu (0,03); Mo (0,06); B (0,27); e Fe-EDTA (2, 23). O pH dessa solução foi ajustado para 5,5. A composição da solução empregada foi utilizada por Ramos (2006) para o abacaxizeiro 'Imperial' cultivado em areia. A cada 15 dias foram aplicadas, também, 10mL / planta de uma solução de uréia na concentração de $0,1 \text{ g L}^{-1}$.

Tabela 1. Composição química de amostras dos substratos utilizados no cultivo do abacaxizeiro 'Imperial' na fase de aclimatização

Trinta dias após o plantio das mudas, foram aplicadas as cinco concentrações do BS. Esses tratamentos foram aplicados por aspersão foliar, nas concentrações mencionadas, na razão de 1mL por planta, utilizando-se o Tween 20 a 0,1% como agente surfactante, de acordo com recomendações de Núñez et al. (1996). Cada concentração foi reaplicada aos 60, 90 e 120 dias após o plantio. A formulação do BS é preparada pelo laboratório de produtos naturais da universidade de La Habana, contendo como ingrediente ativo um análogo espirostânico poli-hidroxilado de fórmula $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_5$ (Coll et al., 1995).

A temperatura, umidade relativa e a densidade de fluxo fotossintético (FFF) foram monitorados durante todo o experimento, por meio de sensores automáticos de coleta de dados modelo WatchDog 450, Spectrum Technologies, Illinois, USA, que registrou os dados a cada 120 minutos durante o período de aclimatização.

1. Avaliações

1.1. Análise de crescimento

A cada trinta dias foram medidos os diâmetros de roseta, a espessura e a largura das folhas e contado o número de folhas. As brotações laterais que surgiram no período decorrido entre as avaliações foram eliminadas. A coleta de plantas teve início trinta dias após a primeira aplicação do BS, finalizando-se aos 150 dias após o plantio. Foi determinada a massa fresca das plântulas e, após estas terem sido submetidas à secagem em estufa de circulação forçada à temperatura de 72 °C por 36 horas, foi determinada a massa seca. Foram determinadas, separadamente, a massa seca das raízes e parte aérea.

1.2. Análise de Nutrientes

Para a determinação dos teores de nutrientes, a parte aérea seca foi triturada em moinho tipo Willey, com peneira de 20 *mesh* e armazenada em frascos hermeticamente fechados. A amostra para análise foi composta pela parte aérea de quatro plântulas por parcela em três repetições por tratamento. Na matéria seca obtida, foram determinados os teores de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), no setor de Nutrição Mineral de Plantas do Laboratório de Fitotecnia da UENF. Foi obtido, também, o conteúdo desses nutrientes na parte aérea das mudas.

As amostras foram submetidas à digestão sulfúrica. O teor de N foi determinado pelo método de Nessler. O teor de P foi quantificado colorimetricamente pelo método do molibdato. As leituras desses dois nutrientes foram feitas em espectrofotômetro da marca ZEISS modelo Spekol UV VIS. O teor de K foi determinado por espectrofotometria de emissão de chama. As metodologias para determinação desses nutrientes são descritas em Malavolta et al. (1997).

Os dados foram submetidos a análises de variância, as médias obtidas para o fator substrato foram comparadas pelo teste Tukey (5% de probabilidade), enquanto as obtidas para o fator concentração do BS foram comparadas pelo teste de Dunnett (5% de probabilidade). As médias obtidas para o fator época foram submetidas a análises de regressão (5% de probabilidade).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1- Crescimento de plantas

A partir dos 120 dias após o plantio, as diferenças entre as médias da massa fresca das plântulas cultivadas nos dois tipos de substratos tornaram-se significativas ($p < 0,05$), sendo mais altas as do substrato BT (Figura 1).

Foi observada maior massa fresca de parte aérea das plantas cultivadas no substrato composto por bagaço de cana e torta de filtro (BT) e pulverizadas com a concentração de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ do BS, aos 150 dias após o plantio. A concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ não teve efeito quando aplicada no substrato BT, enquanto no substrato Plantmax® foi a mais efetiva (Tabela 2).

Na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola foram testadas proporções de substratos com terra, esterco bovino, Plantmax® e composto orgânico. As avaliações foram feitas 90 dias após o plantio e permitiu concluir que a matéria orgânica teve efeito benéfico no desenvolvimento das mudas. O substrato contendo terra (40%), esterco (30%) e Plantmax® (30%) forneceu os melhores resultados para o desenvolvimento da parte aérea (Moreira, 2001).

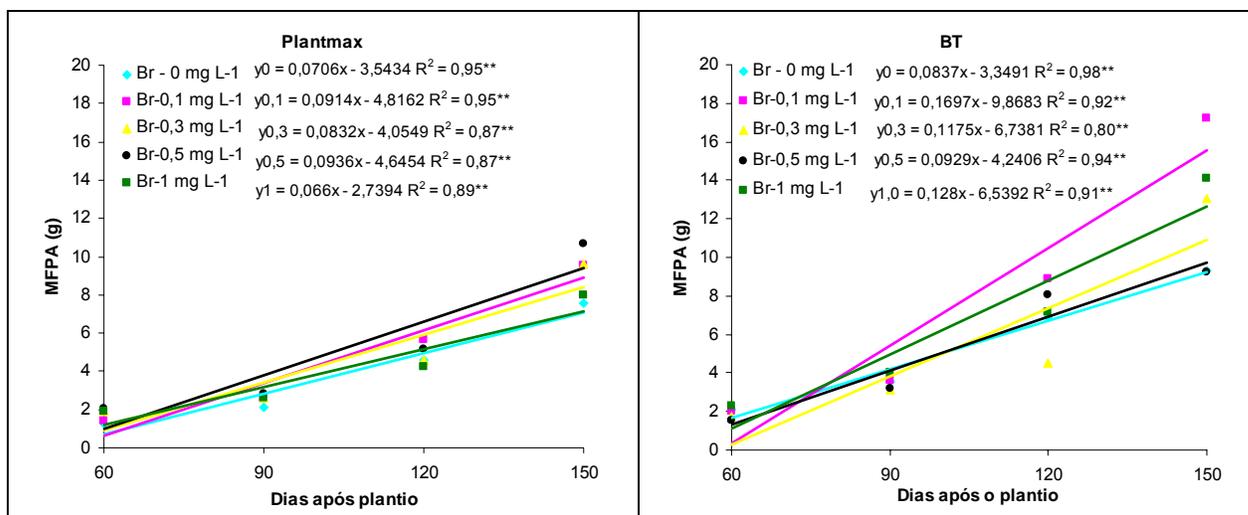


Figura 1. Massa fresca de parte aérea (g/planta) do abacaxizeiro nas quatro épocas de amostragem, diferentes concentrações do BS e nos substratos Plantmax® e BT

Tabela 2. Massa fresca de parte aérea (g/planta) do abacaxizeiro aos 150 dias após o plantio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT*
0	7,53 a B	9,32 a B
0,1	9,51 b B	17,24 a A
0,3	9,59 b B	13,03 a A
0,5	10,66 a A	9,22 a B
1,0	7,99 b B	14,07 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente.

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

Comportamento semelhante foi observado para o acúmulo de massa seca da parte aérea (Figura 2), cujas diferenças entre as médias tornaram-se significativas a partir dos 120 dias ($p=0,05$). As médias obtidas aos 150 dias são apresentadas na Tabela 2. Nesta época, nas plantas cultivadas no substrato BT, a concentração de 0,1 mg L⁻¹ do BS promoveu o acúmulo de massa seca de 2,8 vezes o valor da testemunha cultivada no substrato comercial (Tabela 3). Nos dois casos (produção

de massa fresca e massa seca) as concentrações de BS que promoveram maior crescimento dependeram do tipo de substrato utilizado. No substrato Plantmax®, a concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ do regulador foi efetiva na promoção do crescimento da parte aérea, enquanto no BT esse efeito já foi observado na concentração de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$. O acúmulo de massa seca da parte aérea foi, de modo geral, maior no substrato BT, evidenciando melhores condições desse substrato para o cultivo do abacaxizeiro em relação ao Plantmax®. Essa condição pode ter sido responsável pela efetividade da menor concentração do BS nesse substrato, pois segundo Vázquez e Rodríguez (2000), a efetividade desse regulador é mais pronunciada quando as plantas não se encontram em condições ideais de cultivo (Vázquez e Rodríguez, 2000). Segundo os autores citados, as concentrações de brassinosteróide mais efetivas têm oscilado entre $0,1$ e 1 mg L^{-1} , concordando com os resultados obtidos nesse trabalho e com o relato de Peñalver et al. (1998), de que no manejo das plântulas de abacaxi, dentre outras plântulas produzidas em biofábricas, na fase de aclimatização as raízes são imersas em uma solução de brassinosteróide ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$) para incrementar a emissão das mesmas e o crescimento da parte aérea.

Wu e Zhao (1991) concluíram que a 4-epibrasinolida promoveu o crescimento do epicótilo de feijão através da estimulação do nível endógeno de AIA. Arteca et al. (1983) testando um análogo de brasinolídeo junto com várias auxinas e seus efeitos sobre a produção de etileno em segmentos estiolados de feijão, concluíram que a brasinolídeo atua de forma sinérgica com as auxinas (AIA, ANA, 2,4-D, AIB).

Tanto as auxinas quanto os brassinosteróides promoveram a alongação de coleótilo de soja, porém suas cinéticas foram diferentes. As auxinas apresentaram um período de 10 a 15 minutos, entre a aplicação e o início da alongação, e as plantas tratadas com brassinosteróides apresentaram um espaço de tempo de pelo menos 45 minutos entre a aplicação e o início da alongação. Entretanto, as plantas tratadas com BR continuaram crescendo por várias horas, o que não ocorreu com as plantas tratadas com auxinas (Close et al., 1992).

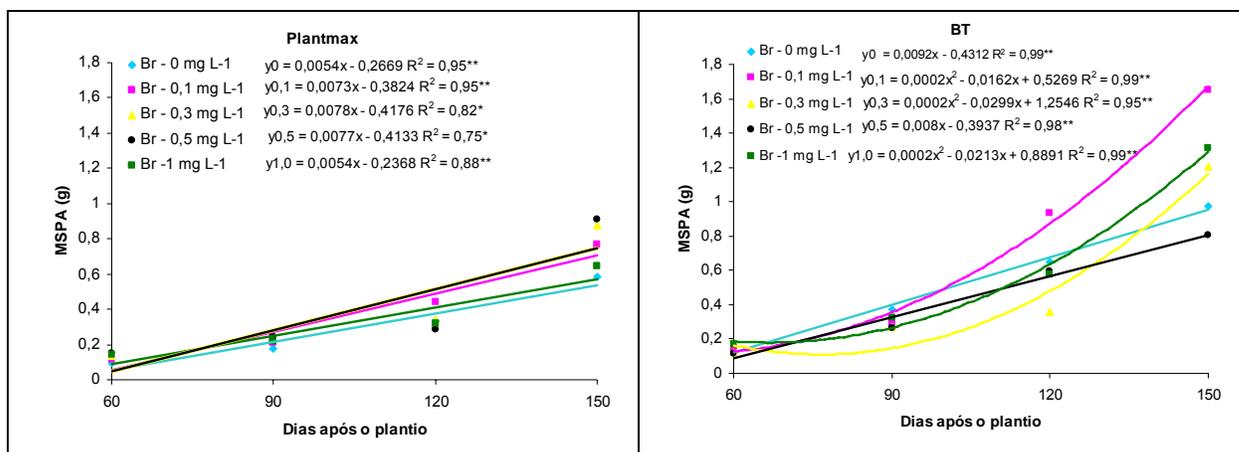


Figura 2. Massa seca da parte aérea (g/planta) do abacaxizeiro nas quatro épocas de amostragem, diferentes concentrações do BS e nos substratos Plantmax® e BT

Tabela 3. Massa seca de parte aérea (g/planta) do abacaxizeiro aos 150 dias após o plantio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT*
0	0,58 b B	0,98 a B
0,1	0,77 b B	1,65 a A
0,3	0,88 b A	1,21 a B
0,5	0,91 a A	0,80 a B
1,0	0,65 b B	1,31 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente.

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

A partir dos 60 dias após o plantio, o número médio de folhas das plantas cultivadas no substrato BT tornou-se significativamente ($p=0,05$) superior ao das plantas cultivadas no Plantmax® (Figura 3)

No substrato Plantmax®, as concentrações de 0,1 e 0,5 mg L⁻¹ do BS foram efetivas e promoveram, em média, de todas as épocas, o maior número de folhas, enquanto no substrato BT, as concentrações efetivas foram de 0,1 e 1,0 mg L⁻¹ (Tabela 4).

Altoé (2006) relatou que em tangerina ‘Cleópatra’ submetida à micorrização e a um análogo de BR, não foi verificado efeito das diferentes concentrações do BR em relação ao número de folhas. O baixo efeito dos BR foi atribuído às boas condições de cultivo em que as plantas se encontravam.

Wang et al. (1994) estudaram o efeito da 24-epibrasinolídeo no crescimento e qualidade do fruto de melão. Os experimentos conduzidos demonstraram que as aspersões foliares de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ do produto (a primeira em mudas com três folhas e a segunda cinco dias depois da primeira), promoveram o crescimento das mudas, o aumento da altura das plantas, do número de folhas, do diâmetro de colmo, do tamanho de raiz e o incremento no conteúdo de matéria seca, no conteúdo de clorofila, na área foliar e no aumento da taxa fotossintética.

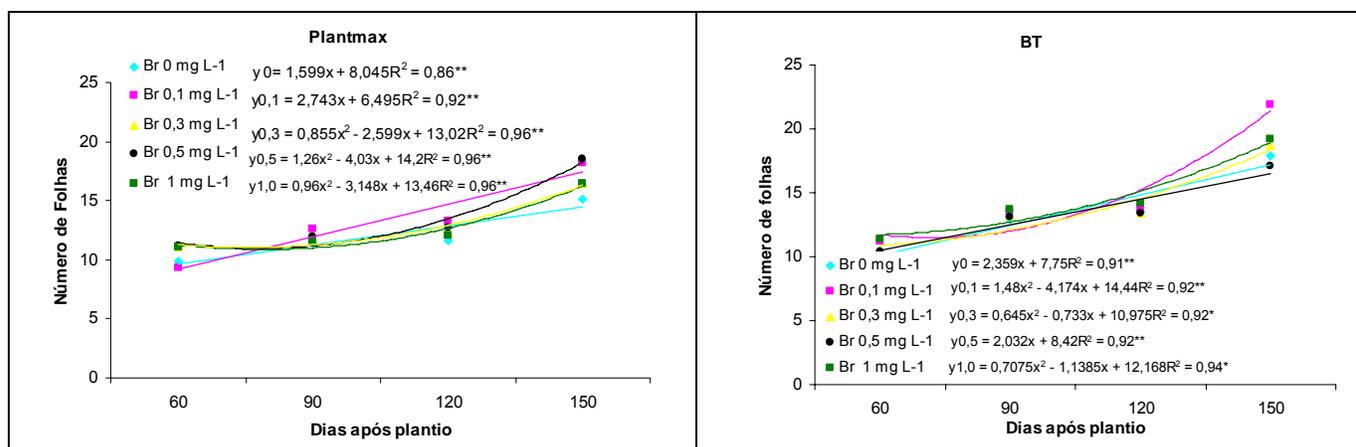


Figura 3. Número de folhas do abacaxizeiro nas quatro épocas de amostragem, diferentes concentrações do BS e nos substratos Plantmax® e BT

Tabela 4. Número de folhas do abacaxizeiro (média de todas as épocas) para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	Bagaço + torta de filtro
0	12,0 b B	13,6 a B
0,1	13,3 b A	15,1 a A
0,3	12,9 b B	14,0 a B
0,5	13,6 a A	13,5 a B
1,0	12,8 b B	14,6 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente.

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

A aplicação do BS nas concentrações de 0,3 e 0,5 mg L⁻¹ aumentou o diâmetro de roseta nas plantas cultivadas no Plantmax®, enquanto esse efeito não foi observado para as plantas cultivadas no BT (Tabela 5). Nas concentrações correspondentes a 0,5 mg L⁻¹ do BS, foram observados o maior diâmetro de roseta e largura de folhas nas plantas cultivadas no Plantmax® (Tabelas 5 e 6). A partir de 0,3 mg L⁻¹ do brassinosteróide, a largura da folha do abacaxizeiro cultivado no Plantmax® igualou-se à largura das folhas das plantas cultivadas no BT (Tabela 6). Nas plantas cultivadas no BT não foi observado efeito das concentrações do BS sobre a largura das folhas.

Orica Ono et al. (2003), trabalhando com plantas de *Tabebuia Alba*, concluíram que os brassinosteróides atuam de forma significativa no crescimento das plantas, inclusive na expansão foliar.

Tabela 5. Diâmetro de roseta (mm) do abacaxizeiro aos 150 dias após o plantio para cada dose de BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT*
0	70,4 b B	83,8 a B
0,1	78,06 b A	89,7 a B
0,3	77,0 a B	79,2 a B
0,5	80,8 a A	85,6 a B
1,0	74,6 b B	92,3 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente.

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

Tabela 6. Largura de folha (mm) do abacaxizeiro aos 150 dias após o plantio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT*
0	11,94 b B	13,73 a A
0,1	12,49 b B	14,23 a A
0,3	13,25 a A	12,95 a A
0,5	13,83 a A	13,50 a A
1,0	13,22 a A	13,89 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

Para a massa seca de raízes (MSR) e para a massa fresca de raízes (MFR), houve interação entre os fatores substrato e época. Até 60 dias após o plantio, os valores de MSR e MFR foram semelhantes nos dois substratos, sendo que a partir dos 90 dias observou-se um aumento significativo desses valores no substrato Plantmax®, até os 150 dias após o plantio (Figura 4).

O substrato exerce grande influencia na arquitetura do sistema radicular, sendo de grande importância a sua aeração e aderência às raízes. Segundo Hartman et al. (1990), o substrato deve ter boa capacidade de retenção de água, volume ótimo de espaços porosos preenchidos por gases e adequada taxa de difusão de oxigênio necessário à respiração das raízes.

Neste trabalho, não foi verificado efeito do brassinosteróide sobre o acúmulo de massa fresca ($p=0,05$), aos 150 dias após plantio. Entretanto, para a massa seca foi verificada interação entre as concentrações do brassinosteróide e tipo de substrato. No substrato Plantmax®, foi verificado efeito negativo das concentrações do BB - 16 sobre a produção de massa seca de raízes (Tabela 7). No substrato BT, as doses de 0,3 e 1,0 mg L⁻¹ aumentaram o acúmulo de massa seca de raízes (Tabela 7). Nas plantas cultivadas no Plantmax® e sem a aplicação do brassinosteróide a média de massa seca de raízes foi superior à média das plantas cultivadas no substrato BT (Tabela 7).

Roddick e Guan (1991) preconizaram que, quando o brassinosteróide é aplicado diretamente e continuamente, promove a inibição do crescimento de raízes. Sugeriram, ainda, que as respostas das raízes aos brassinosteróides são diversas e fisiologicamente diferentes das respostas de crescimento dos talos. Por isso, devem ser cuidadosamente considerados os aspectos de formulação, aplicação e tempo necessário para exposição.

Roddick et al. (1993), investigando os efeitos do 24-epibrassinolídeo em raízes excisadas de tomateiro crescidas in vitro, observaram que os efeitos inibitórios nas raízes foram observados em concentrações de 0,1µM ou maiores.

Fabri et al. (2005) avaliaram diferentes substratos (Mecplant-Horta, Mecplant-MPO, Plantmax®-HA, Plantmax®-HT, Rendmax-estufas, Solomax-plus, Bioplant, Tropstrato, Golden Mix) na aclimatização de mudas de pepino e tomate. Nesse caso, às mudas desenvolveram-se melhor no substrato Plantmax® -HT, atendendo às exigências de desenvolvimento para mudas de alta qualidade.

Silva et al. (2003) testaram diferentes substratos (vermiculita, Plantmax® e a mistura de vermiculita + Plantmax® na aclimatização de plântulas de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.), provenientes de cultura de tecidos. Concluíram

que os melhores resultados para aumentar o peso da matéria fresca do sistema radicular foram obtidos com o emprego do substrato Plantmax®.

Hoffmann et al. (2001), avaliando cinco tipos de substratos (Plantmax®, solo+ areia, composto orgânico + areia, e solo + composto orgânico + areia e vermiculita) na aclimatização de porta-enxertos de macieira micropropagados, verificaram que, dos substratos avaliados, a vermiculita mostrou-se menos eficiente para o uso durante a aclimatização de plantas de macieira micropropagadas, com relação ao desenvolvimento do sistema radicular, mostrando que o tipo de substrato utilizado interfere no crescimento das raízes.

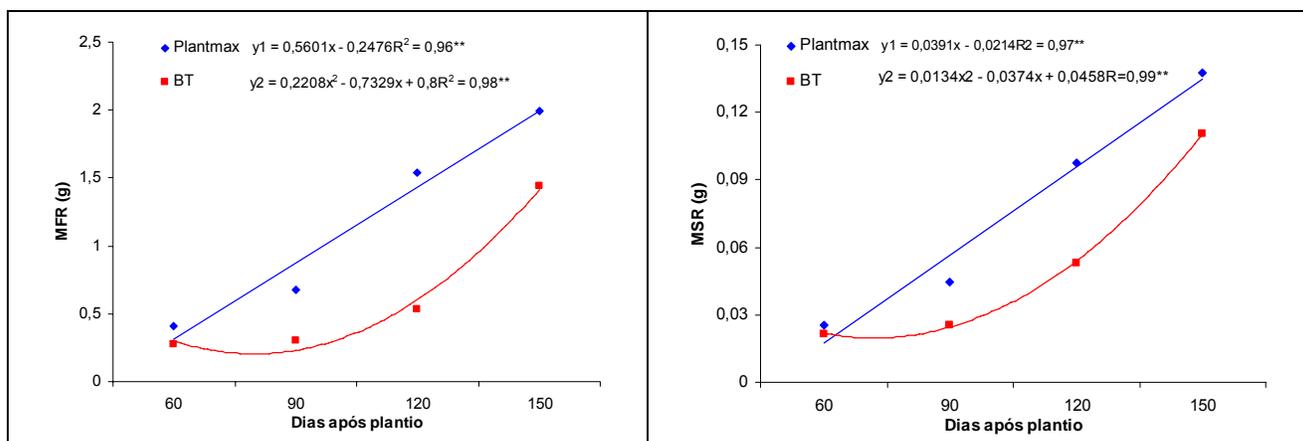


Figura 4. Massa fresca de raízes (g/planta) e massa seca de raízes (g) do abacaxizeiro nas quatro épocas de amostragem e nos substratos Plantmax® e BT

Tabela 7. Massa seca da raiz (mg/planta) do abacaxizeiro aos 150 dias após o plantio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT*
0	190 a A	81 b B
0,1	130 a B	109 a B
0,3	129 a B	140 a A
0,5	136 a B	75 b B
1,0	105 a B	147 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

2. Teores e conteúdos de nutrientes na parte aérea

Não foi verificado efeito das concentrações do BS sobre os teores de N na parte aérea das plantas cultivadas no Plantmax®, em nenhuma época de avaliação (Figura 5). Aos 60 dias após plantio, as plantas cultivadas no substrato BT apresentaram teores mais altos de N quando tratadas com o BS, em todas as concentrações avaliadas, em relação à testemunha (Figura 5 e Tabela 8). Esse efeito não foi verificado em nenhuma outra época avaliada.

Aos 60 dias após o plantio, nas plantas cultivadas no substrato BT, os teores de N foram maiores que os teores das plantas cultivadas no substrato Plantmax®, em todas as concentrações do BS avaliadas, exceto na testemunha (Tabela 8). Nas demais épocas avaliadas, as plantas cultivadas no substrato BT apresentaram teores mais altos de N em todas as concentrações do BS avaliadas, inclusive maiores que na testemunha cultivada no Plantmax® ($p < 0,05$).

No substrato BT, as concentrações de 0,1 e 1,0 mg L⁻¹ do BS promoveram os maiores conteúdos de N na parte aérea, enquanto no substrato Plantmax® os maiores conteúdos de N foram verificados nas concentrações de 0,3 e 0,5 mg L⁻¹ (Figura 6).

Aos 150 dias, todas as concentrações de BS aplicadas nas plantas cultivadas no substrato BT, com exceção da concentração de 0,5 mg L⁻¹, promoveram maiores

conteúdos de N em relação à testemunha. A concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ do BS resultou em menor conteúdo de N nas plantas cultivadas no substrato BT (Tabela 9). Todos os valores de conteúdo verificados nas plantas cultivadas no substrato BT foram superiores àqueles obtidos no substrato Plantmax®, exceto na concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ cujo conteúdo de N se igualou ao das plantas do substrato BT (Tabela 9).

Altoé (2006) verificou que a concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ do BR em associação com o FMA proporcionou um incremento de 15,4% no conteúdo de N na massa seca da parte aérea de plantas da tangerineira 'Cleopatra'.

Anuradha e Rao (2003) verificaram que a aplicação de BR em plantas de arroz resultou em aumento nos níveis de ácidos nucléicos e proteínas solúveis. Pustovoitova et al. (2001) verificaram o aumento no conteúdo de aminoácidos livres e amidas nas folhas de plantas de pepino tratadas com BR.

Via de regra, além da demanda nutricional, o teor do elemento ou a produção de outros sinais na parte aérea ou nas raízes podem estar envolvidos nos ajustes metabólicos da planta frente a algum estresse nutricional. No caso do N, sabe-se hoje que além dos ajustes na absorção, mediados pelas raízes, a absorção do N é adicionalmente regulada pelo fluxo de metabólitos nitrogenados provindos da parte aérea ou gerados nas próprias raízes. Dentre estes sinais, podem ser mencionados o fluxo do próprio N na forma mineral no floema ou a circulação de certos aminoácidos, dentre os quais, alguns dos mais importantes seriam o glutamato e a glutamina (Glass et al., 2002).

Braum e Wild (1984) verificaram que os BR estimulam a atividade fotossintética, que é expressa por uma aceleração na fixação de CO_2 , incrementando a biossíntese de proteínas e açúcares redutores em plantas de mostarda. Os BR também ativaram a síntese de proteínas em folhas de trigo (Marquardt e Adam, 1991).

Segundo Diniz et al. (1999) avaliando a absorção de macronutrientes por explantes de bananeira in vitro, o teor de N foi maior nos primeiros 10 dias, e diminuiu em função do tempo. Essa redução na concentração de N nos tecidos, com o tempo de cultivo, pode ser devida ao efeito de diluição por maior produção de massa seca, o que corrobora os resultados obtidos neste experimento, no qual,

também, foi verificado maior teor de N na parte aérea aos 60 dias após o plantio e que foi diminuindo em função do tempo (Figura 5). Em relação ao conteúdo de N na parte aérea (Figura 6), os valores mais altos foram observados aos 150 dias após plantio, período em que foram verificados os menores teores de N na parte aérea (Figura 5).

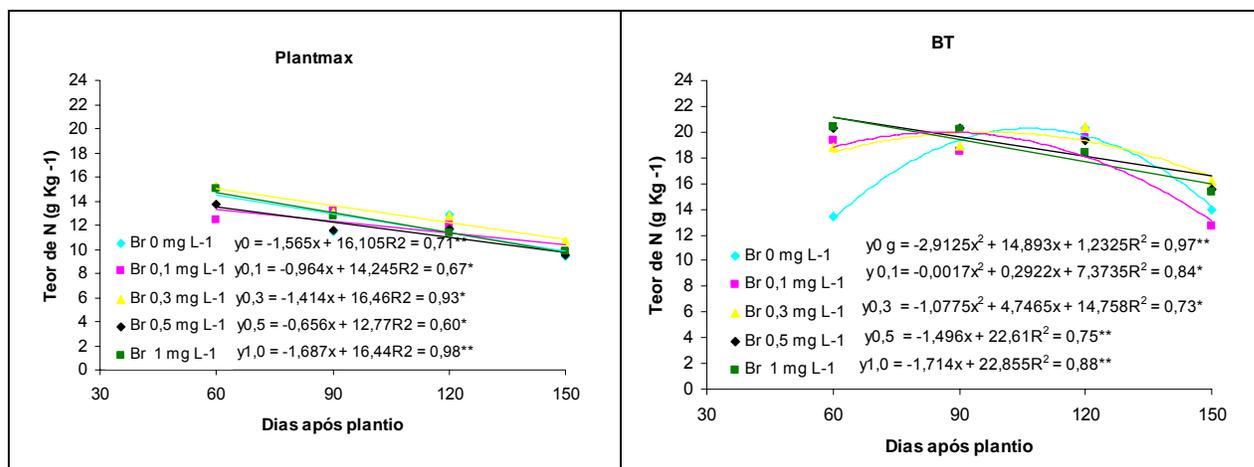


Figura 5. Teor de N na parte aérea (g kg^{-1}) do abacaxizeiro nas quatro épocas de amostragem, diferentes concentrações do BS e nos substratos Plantmax® e BT

Tabela 8. Teor de N na parte aérea (g kg^{-1}) do abacaxizeiro aos 60 dias após o plantio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L^{-1})	Substrato	
	Plantmax®	BT*
0	15,06 a A	13,42 a B
0,1	12,48 b A	19,32 a A
0,3	15,28 b A	18,78 a A
0,5	13,74 b A	20,28 a A
1,0	15,00 b A	20,43 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade, respectivamente.

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

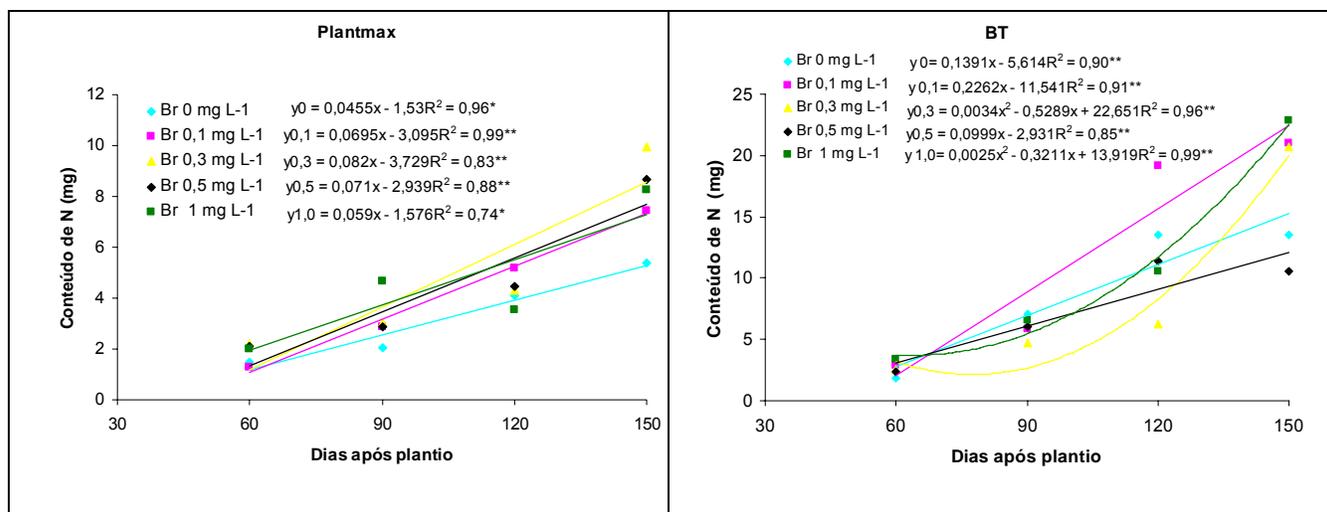


Figura 6. Conteúdo de N (mg/planta) na parte aérea do abacaxizeiro nas quatro épocas de amostragem, diferentes concentrações do BS e nos substratos Plantmax® e BT

Tabela 9. Conteúdo de N (mg/planta) na parte aérea do abacaxizeiro aos 150 dias após o plantio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT*
0	5,36 b A	13,56 a B
0,1	7,46 b A	21,03 a A
0,3	9,95 b A	20,68 a A
0,5	8,65 a A	10,55 a B
1,0	8,27 b A	22,87 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade, respectivamente.

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

Aos 60 dias após o plantio, as testemunhas cultivadas nos dois substratos apresentaram teores semelhantes de P na parte aérea. Os mais altos teores de P foram verificados nas plantas cultivadas no substrato BT em relação às cultivadas no substrato Plantmax®, para as concentrações do BS aplicadas (Figura 7). Foi observado que, quando comparadas à testemunha, as aplicações do BS

proporcionaram teores mais elevados de P nas plantas cultivadas no substrato BT, enquanto naquelas cultivadas no substrato Plantmax® , não foi observada diferença significativa entre as concentrações do BR (Tabela 10). Na concentração de 0,5 mg L⁻¹ do BS, os teores de P nas plantas se igualaram nos dois substratos.

Aos 150 dias após o plantio, as concentrações de 0,1 e 1,0 mg L⁻¹ do BS, quando aplicadas ao substrato BT, proporcionaram maiores conteúdos de P na parte aérea, enquanto no substrato Plantmax® , as concentrações que proporcionaram maiores valores foram de 0,3 e 0,5 mg L⁻¹ do BS (Figura 8).

Aos 150 dias após o plantio, a concentração mínima efetiva que proporcionou maior conteúdo de P (3,53 mg) na parte aérea das plantas cultivadas no substrato BT foi de 0,1 mg L⁻¹ do BS, enquanto no Plantmax®, a concentração mínima efetiva foi de 0,3 mg L⁻¹ e proporcionou menor conteúdo (2,67 mg) que o verificado no substrato BT (Tabela 11). Essas diferenças de comportamento em acumular P na parte aérea verificadas entre os dois tipos de substrato podem estar relacionadas ao maior teor de P presente no substrato BT (Tabela1).

Altoé (2006) verificou, aos 140 dias após semeadura, que o conteúdo de P na massa seca das folhas da tangerineira 'Cleopatra' cultivada em substrato Plantmax® , provenientes de plantas submetidas à concentração de 0,5 mg L⁻¹ do BR teve um acréscimo de 6,4% em relação à testemunha.

Os maiores valores de P na parte aérea das plantas cultivadas no substrato BT foram verificados aos 60 dias (Figura 7). Esses valores podem ter ocorrido em função de uma interação entre disponibilidade de P no substrato (maior no substrato BT) e o efeito do BS em mediar a absorção do P. Sendo assim, em condições de baixa disponibilidade desse nutriente, o BS não apresentaria efeitos sobre a absorção, mas esta seria favorecida em condições de maior disponibilidade. O mesmo efeito foi verificado para o N.

As concentrações de P nos explantes de bananeira foram mais altas nos primeiros dias de cultivo, e observou-se a redução de seus teores com o tempo (Diniz, 1999). Segundo Williams (1993), essas reduções são explicadas pela diminuição da absorção de P e o conseqüente efeito de diluição causado pelo crescimento das mudas.

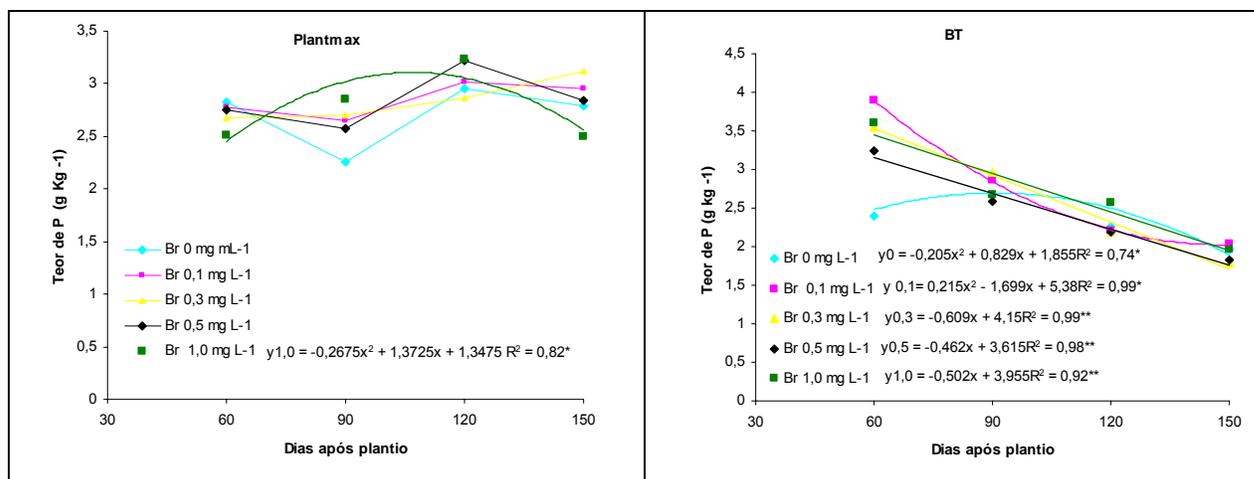


Figura 7. Teor de P na parte aérea (g kg⁻¹) do abacaxizeiro nas quatro épocas de amostragem, diferentes concentrações do BS e nos substratos Plantmax® e BT

Tabela 10. Teor de P na parte aérea (g kg⁻¹) do abacaxizeiro aos 60 dias após o plantio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT*
0	2,83 a A	2,45 a B
0,1	2,78 b A	3,89 a A
0,3	2,68 b A	3,57 a A
0,5	2,75 a A	3,24 a A
1,0	2,51 b A	3,60 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade, respectivamente.

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

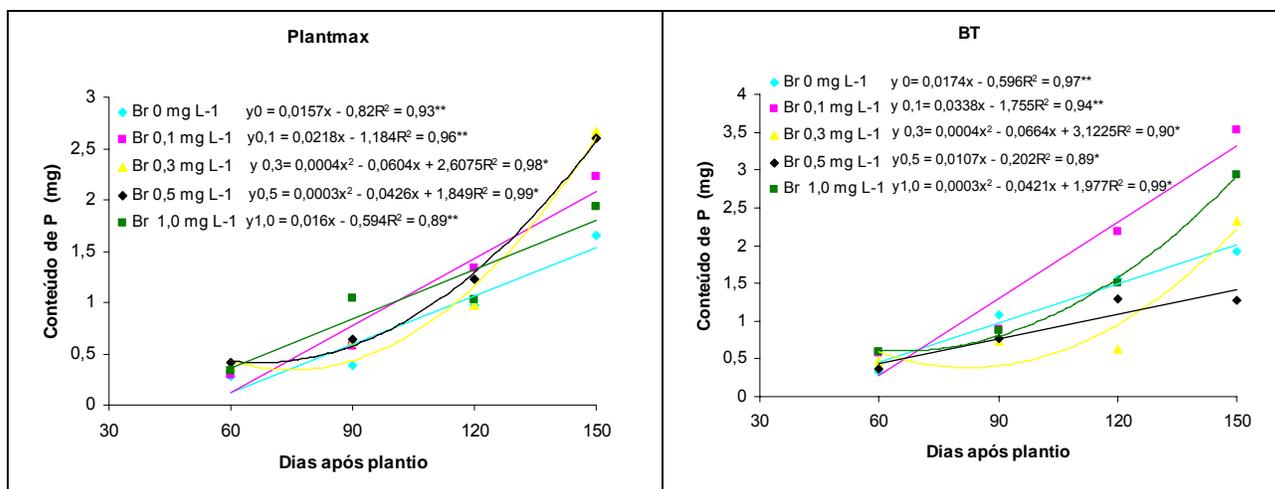


Figura 8. Conteúdo de P (mg/planta) na parte aérea do abacaxizeiro nas quatro épocas de amostragem, diferentes concentrações do BS e nos substratos Plantmax® e BT

Tabela 11. Conteúdo de P (mg/planta) na parte aérea do abacaxizeiro aos 150 dias após o plantio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT*
0	1,65 a B	1,92 a B
0,1	2,22 b B	3,53 a A
0,3	2,67 a A	2,33 a B
0,5	2,60 a A	1,27 b B
1,0	1,93 b B	2,94 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade, respectivamente.

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

Aos 60 dias após o plantio, nas plantas cultivadas no substrato BT, as aplicações do BS aumentaram os teores de K (Figura 9), mas esse efeito não foi observado nas plantas cultivadas no Plantmax® (Tabela 12). Entretanto, aos 90 dias após plantio, houve uma inversão desse comportamento, sendo verificado efeito do BS nas plantas cultivadas no Plantmax®, não sendo mais verificado efeito nas plantas cultivadas no substrato BT (Tabela 13). Esse efeito do BS no aumento do

teor de K também pode estar relacionado à interação entre efeito do regulador de crescimento e disponibilidade dos nutrientes, uma vez que os teores de K no substrato Plantmax® foram mais altos que os verificados no substrato BT, embora a sua disponibilidade ao longo do tempo não tenha sido avaliada no substrato.

Aos 150 dias após plantio, foi verificado que, no substrato BT, as concentrações de 0,3 e 1,0 mg L⁻¹ do BS promoveram maiores conteúdos de K na parte aérea, enquanto no substrato Plantmax®, as concentrações que promoveram maiores valores foram de 0,3 e 0,5 mg L⁻¹ (Figura 10). A concentração de 0,5 mg L⁻¹ do BS, quando aplicada às plantas cultivadas no Plantmax®, promoveu o maior conteúdo de K na parte aérea. Essa concentração, entretanto, promoveu o mais baixo conteúdo de K nas plantas cultivadas no substrato BT. Nas plantas cultivadas no substrato BT, a concentração de 1,0 mg L⁻¹ promoveu o maior conteúdo de K (Tabela 14).

O potássio, apesar de não fazer parte de nenhum composto, tem um papel vital na fotossíntese, na ativação de mais de 60 sistemas enzimáticos em plantas. Sua alta mobilidade permite seu movimento rápido de célula para célula, ou de tecidos mais velhos de plantas para tecidos em desenvolvimento recente e para órgãos de armazenamento (Raij, 1990).

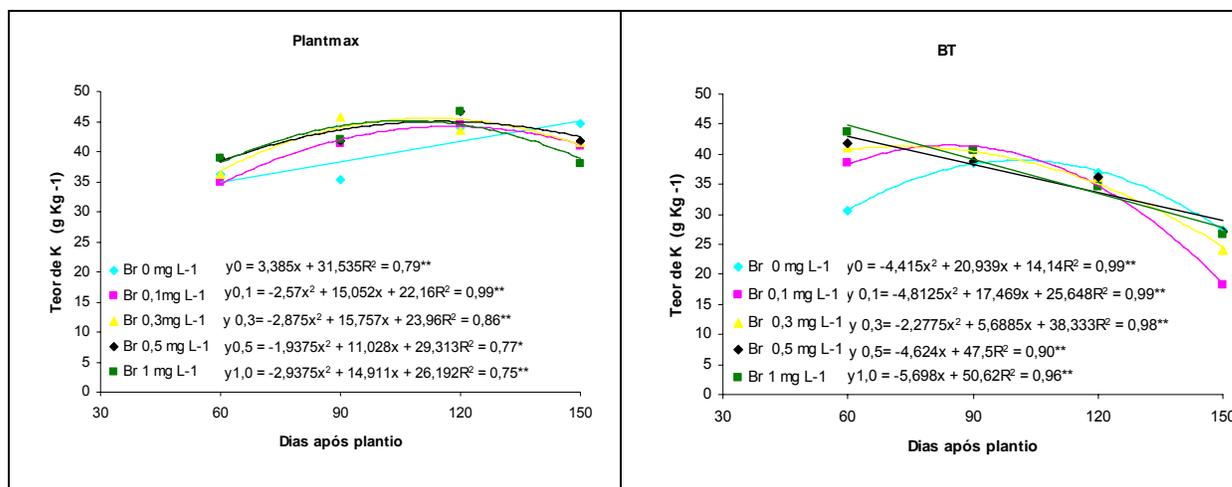


Figura 9. Teor de K na parte aérea (g kg⁻¹) do abacaxizeiro nas quatro épocas de amostragem, diferentes concentrações do BS e nos substratos Plantmax® e BT

Tabela 12. Teor de K na parte aérea (g kg^{-1}) do abacaxizeiro aos 60 dias após o plantio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L^{-1})	Substrato	
	Plantmax®	BT*
0	36,16 a A	30,59 b B
0,1	34,83 a A	38,50 a A
0,3	36,25 a A	41,22 a A
0,5	39,00 a A	41,75 a A
1,0	38,92 a A	43,58 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade, respectivamente.

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

Tabela 13. Teor de K na parte aérea (g kg^{-1}) do abacaxizeiro aos 90 dias após o plantio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L^{-1})	Substrato	
	Plantmax®	BT
0	35,33 a B	38,58 a A
0,1	41,42 a A	40,75 a A
0,3	45,75 a A	39,17 b A
0,5	41,83 a A	38,67 a A
1,0	42,00 a A	40,75 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade, respectivamente

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

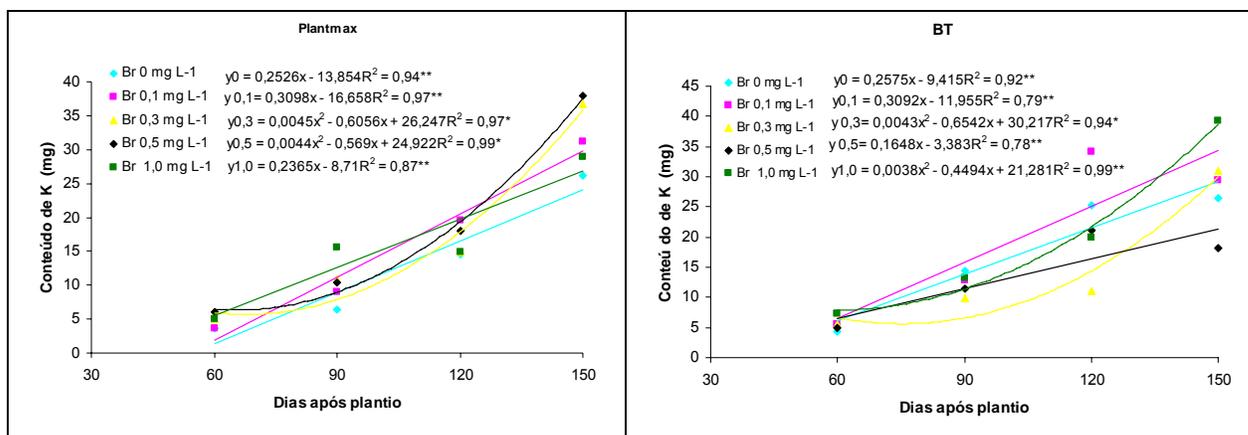


Figura 10. Conteúdo de K (mg) na parte aérea do abacaxizeiro nas quatro épocas de amostragem, diferentes concentrações do BS e nos substratos Plantmax® e BT

Tabela 14. Conteúdo de K (mg) na parte aérea do abacaxizeiro aos 150 dias após o plantio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT*
0	26,14 a B	26,46 a B
0,1	31,14 a B	29,42 a B
0,3	36,77 a A	31,06 a B
0,5	37,96 a A	18,14 b B
1,0	28,99 b B	39,35 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnet a 5% de probabilidade, respectivamente.

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

3. Condições climáticas na aclimatização

As aplicações potenciais de BRs na agricultura e horticultura são baseadas na habilidade deles para aumentar o rendimento das culturas estimulando processos fisiológicos, podendo tornar possível o cultivo de plantas sob condições desfavoráveis (estressantes), tais como alta temperatura, salinidade, seca ou baixa disponibilidade de nutrientes.

A temperatura média calculada para cada época oscilou pouco (médias de 29°C aos 60 e 90 dias após o plantio e médias de 30°C aos 120 e 150 dias após o plantio). Vale salientar que, aos 90 dias após o plantio, a temperatura máxima chegou a 45°C, o que pode ter gerado um estresse de temperatura nas plantas.

A umidade relativa teve uma variação maior (média de 52% aos 60 dias, de 63% aos 90 dias, 64% aos 120 dias e 71% aos 150 dias). Segundo Sasse (1997), os brassinosteróides fazem um papel independente nas primeiras fases de crescimento vegetativo, em particular como promotores de crescimento, estimulando alongamento celular e divisão, crescimento vegetativo, reprodução, interagindo com outros hormônios, aumentando o rendimento e a produção de biomassa em diferentes cultivares e acelerando a maturação. Além disso, eles aumentam resistência das plantas a pestes e fatores de tensão diferentes como salinidade, seca, altas temperaturas.

González-Olmedo et al. (2005), testando diferentes concentrações de brassinosteróide na aclimatização de plântulas de banana micopropagadas, verificaram que nenhuma plântula morreu nos tratamentos com o brassinosteróide. Quando submetidas a temperaturas extremas, maior número de plantas apresentaram sintomas de tensão com áreas necróticas nas folhas de 38% e 97%, correspondentes às temperaturas de 34 °C e 7 °C , respectivamente. Nas plantas tratadas com um análogo de brassinosteróide os efeitos da tensão térmica foram significativamente reduzidos.

Em experimento conduzido com plântulas de *Vigna* tratadas com concentrações de 0,1 a 1,0 mM e expostas após 72 horas a temperaturas de 22 e 48 °C por 90 minutos. Upadhyaya et al. (1991) demonstraram que o epibrassinolídeo aumentou a tolerância de *Vigna* a altas temperaturas e aumentou, também, sua atividade antioxidante. Em plântulas tratadas com o epibrassinolídeo, ocorreu incremento da ácido ascórbico oxidase e diminuiu a atividade da superóxido dismutase, em comparação com as plântulas não tratadas.

A transpiração foliar está relacionada à redução da temperatura da folha (Nobel, 1991), com efeitos sobre a redução no $DPV_{\text{folha-ar}}$ (Postl et al., 1993). O DPV (déficit de pressão de vapor) indica a diferença de temperatura entre a superfície da

folha e o ar, quanto menor essa diferença menores taxas transpiratórias são encontradas.

Durante a condução do presente trabalho, as médias do déficit de pressão de vapor aos 60, 90, 120 e 150 foram de 1.99, 1.61, 1.70 e 1.38 Kpa, respectivamente, o que indica que as plântulas estavam sendo cultivadas em boas condições (Figura 11).

Segundo Pasqual (2001), as folhas de plantas micropropagadas apresentam pouca quantidade de ceras epicuticulares, cutícula mais fina e baixa habilidade dos estômatos fecharem-se sob condições de baixa umidade relativa do ar.

As médias de fluxo de fótons fotossintéticos (FFF) foram de 183, 261, 152, 144 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, valores considerados dentro dos limites esperados para plantas cultivadas em estufas, equipadas com sombrite (Figura 11).

Vázquez e Rodríguez (2000) destacam que dois conceitos importantes ficaram explícitos desde o começo das pesquisas sobre os efeitos dos reguladores de crescimento vegetal: primeiro, que os brassinosteróides podem acelerar o crescimento e a maturação das plantas (podendo aumentar os incrementos absolutos de crescimento com o tempo) e segundo, que os efeitos induzidos pelos brassinosteróides não podem ser considerados de forma isolada, já que estes compostos interagem com outros reguladores de crescimento vegetal endógeno e com sinais ambientais, particularmente com a qualidade da luz.

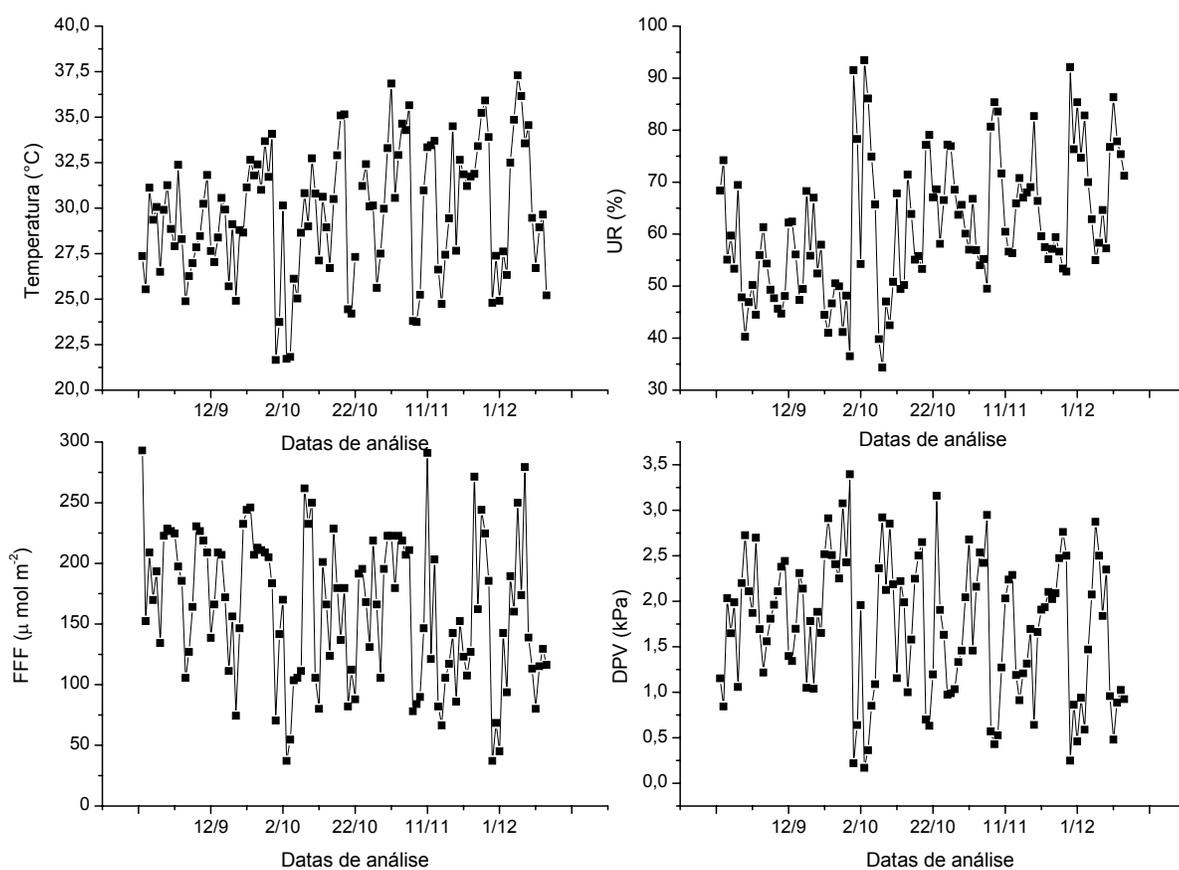


Figura 11. Valores registrados de temperatura, umidade relativa, fluxo de fótons fotossintéticos e déficit de Pressão de vapor, durante a condução do experimento.

CONCLUSÕES

O substrato composto pela mistura entre bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro (3:2, v:v) promove maior crescimento da parte aérea das mudas do abacaxizeiro 'Imperial' no período de aclimatização;

O BS promove maior crescimento da parte aérea das mudas do abacaxizeiro 'Imperial', no período de aclimatização. A melhor concentração do BS, relacionada ao maior crescimento, é de 0,5 mg L⁻¹ e de 0,1 mg L⁻¹ para as plantas cultivadas nos substratos Plantmax® e BT, respectivamente;

O efeito do BS sobre os teores de nutrientes na parte aérea e no acúmulo de massa seca de raízes é dependente do tipo de substrato e da época de amostragem;

Na fase de aclimatização o BS e o substrato composto por uma mistura entre bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro podem ser utilizados para acelerar o crescimento do abacaxizeiro e proporcionar a obtenção de mudas aclimatizadas em menor período de tempo;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Altoé, J.A. (2006) Tangerina 'Cleopatra' submetida a micorrização e a um análogo de brassinosteróide. Tese (Mestrado em produção vegetal)-Campos-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense-UENF.72p.

Anuradha, S., Rao, S.S.R. (2003) Application of brassinosteroids to rice seeds (*Oryza sativa*. L) reduced the impact of salt stress on growth, prevented photosynthetic pigment loss and increased nitrate reductase activity. *Plant Growth regul.*, v.40, n.1,p. 29-32.

- Arteca, R.N., Tsai, D.S., Schlagnhauser, C., Mandava, N.B. (1983) The effect of brassinolide on auxin-induced ethylene production. *Physiologia Plantarum*, v.74, p.631-634.
- Braun, P., Wild, A. (1984) The influence of brassinosteroid on growth and parameters of photosynthesis of wheat and mustard plants. *Journal of Plant Physiology*.116: 189 -196.
- Clouse, S.D., Zurek, D.M., McMorris, T.C., Baker, M.E. (1992) Effect of brassinolide on gene expression in elongation soybean epicotyls. *Plant Physiology*. v 100, p 1377-1383.
- Coll, M.T., Jomarrón, R.I.M., Robaina,R.C.M., Alonso, B.E.M., Cabrera, P.M.T. (1995) Polyhydroxyspirostanones as plant growth regulators.PCTInt. Appl. Co 7571/100, AOIN 45/00WO 97/13780.
- Colli, S (2004) Outros Reguladores: brassinosteróides, poliaminas,ácidos jasmônico e salicílico. In: Kerbauy, G.B. *Fisiologia vegetal*, São Paulo, p. 333-340.
- Creelman, R.A., Mullet, J.E. (1997). Oligosaccharis, Brassinolides, and Jasmonates:nontraditional regulators of plant growth, development and gene expression.the plant cell, vol9, p.1211-1223.
- Diniz, J.D.N., Gonçalves, A.N., Hernandez, F.F.F, Torres, A.T. (1999) Absorção de macronutrientes por explantes de bananeira in vitro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira.*, Brasília-DF, v.34,n.7, p1201-1209.
- Fabri, E.G.,Sala, F.C.,Minami, K.,Melo,P.C.T.,Favoreto, P.,Dias,C.T.S.,Abreu,M.F. (2005) Avaliação de substratos orgânicos na produção de mudas.II Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas.Fortaleza-CE.375p.

- Fujioka, S., Sakurai, A. (1997) Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Physiologia Plantarum*, v.100, p710-715.
- Glass, A.D.M., Britto, D.T., Kaiser, B.N., Kinghorn, J.R., Kronzucker, H.J., Kumar, A. Okamoto, M., Rawat, S., Siddiqi, M.Y., Unkles, S.E., Vidimar, J.J. (2002) The regulation of nitrate and ammonium transport systems in plants. *Journal of Experimental Botany*, n.53,p 855-864.
- González-Olmedo, J.L., Córdova, A., Aragón, C.E., Pina, D., Rivas, M., Rodriguez, R. (2005) Effect of analogue of brassinosteroid on FHIA-18 plantlets exposed to thermal stress. *InfoMusa*, v, 14, n1.p18-20.
- González R, R., Quintín, M.D., Expósito, L.A., González,J.L., Martínez, T. Hidalgo, M. (1997). Effectiveness of eighth strains of azotobacter on the adaptation of tissue cultured plantlets of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.), CV ' Smooth Cayenne'. *Acta Horticulturae*, n. 425, p.277-284.
- Gottardi, M.V.C., Lemos, E.G.M., Ruggiero, C. (2002) Avaliação por RAPD de plantas de abacaxizeiro cultivar smooth cayenne derivadas do seccionamento de talo e cultura de tecidos. *Revista Brasileira de Fruticultura*.Jaboticabal-SP, v.24, n.1,p 1-5.
- Hoffmann, A., Pasqual, M., Chalfun, N.N.J., Fráguas, C.B. (2001) Efeito de substratos na aclimatização de plantas micropropagadas do porta-enxerto de macieira 'Marubakaido'.*Ciência agrotecnica*. Lavras-MG, v.25, n.2, p.462-466.
- Kulaeva, O.N., Burkhanov, E.A., Fedina, A.B. Khokhlova, V.A., Bokebayeva,G.A., Vorbrodt, H.M. and Adam, G. (1991) Effect of brassinosteroids on protein synthesis and plant cell ultra structure under stress. In; Cutler H.G., Yokota, T. and Adams, G.(eds) *Brassinosteroids. Chemistry, bioactivity and application*, american Chem. Soc, washington Dc, USA.p.141-145.

- Malavolta, E., Vitti, G.C., Oliveira, S.A. (1997) Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações. 2ed. Piracicaba-SP, POTAFOS, 319p.
- Marquardt, V., Adam, G. (1991) Recent advances in brassinosteroid research. *Chemistry of Plant Protection*, v.7, p103-139.
- Mirabal, M., Herrera, R. (1998) Efecto Del BIOBRAS-16 en algunos indicadores morfológicos de la hierba de guinea (*Panicum maximum*). In: seminario científico, 11. La Habana, Instituto Nacional de ciencias agrícolas, p124.
- Moreira, M. A (2001) Produção e aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro *Ananas comosus* (L) Merrill cv. Pérola. Tese (Doutorado UFLA) Lavras-MG, 81p.
- Núñez, M., Domingos, J.P., Torres, W., Coll, F., Alonso, E., Benítez, B. (1994) Influencia de análogos de brasinoesteroides en el rendimiento de diferentes cultivos hortícolas Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, p123. *Cultivos Tropicales*. 15.p.87.
- Núñez, M., Domingos, J.P., Torres, W., Coll, F., Alonso, E., Benítez, B. (1995) Influencia de un análogo de brasinoesteroides en el BIOBRAS-6 en el rendimiento de plantas de tomate cultivar INCA-17. *Cultivos Tropicales*. 16 (3). p.49-52.
- Núñez, M., Torres, W., Echevarría, L. (1996) Influencia de un análogo de brasinoesteroides en el crecimiento y la actividad metabólica de plantas jóvenes de tomate. *Cultivos Tropicales*. 17 (3). p.26-30.

- Orica Ono,E., Nakamura,T., Machado, S.R., Rodrigues, J.D. (2000) Application of brassinosteroid to *Tabebuia Alba* (Bignoniaceae) plants.Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal.Campinas-SP.12(3),p187-194.
- Pasqual, M., Moreira, M.A., Sobrinho, A.A. (1998) Biotecnologia aplicada à produção de mudas de abacaxi:In Informe Agropecuário.Belo Horizonte, v.19, n.195, p20-23.
- Pasqual, M. (2001) Introdução: Fundamentos Básicos. Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu”. Cultura de Tecidos Vegetais, Lavras, UFLA/FAEPE, 97p.
- Peñalver, D.A.; Terry, F.J.; Rodríguez, M.A.D. (1998). Aclimatización. In: Ponce,J.N.P. Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Vila Clara-Cuba. P.193-201.
- Pustovoitova, T.N., Zhdanova, N.E., Zholkevich, V.N. (2001) Epibrassinolide increases plant drought resistance. Dokl.Biochem.Biophys. V. 376, n. 1,p.36-38.
- Ramos, M.J.M (2006) Caracterização de sintomas de deficiência de macronutrientes e de boro em abacaxizeiro cultivar imperial. Tese (Doutorado) – Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense-UENF, 95p.
- Raij, B.V. (1990) Potássio: necessidade e uso na agricultura moderna/Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato.POTAFOS piracicaba-SP.45p.
- Roddick, J., Guan, M. (1991) Brassinosteroids and root development. In: cutler, H.G., Yokota, T., Adam, G. (Eds). Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and applications. Washington: American Chemical Society. Cap 20, P. 231-235. (ACS Symposium Series 474).

- Roddick, J., Rijnenberg, A. Ikekawa, N. (1993) Developmental effects of 24-epibrassinolide in excised roots of tomato grown *in vitro*. *Physiologia Plantarum*, v.87, p.453-458.
- Sasse, J.M. (1997) Recent progress in brassinosteroid research. *Physiologia Plantarum*, v.100, p696-701.
- Silva, A.B., Pasqual, M., Maciel, A.L.R., Dutra, L.F. (2003) BAP e substratos na aclimatização de plântulas de Gloxínea (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) provenientes de cultura de tecidos. *Ciência agrotecnica*. Lavras-MG, v.27, n.2, p.255-260.
- Upadhyaya, A., Davies, T.D., Sankhla, N. (1991) Epibrassinolide does not enhance heat shock tolerance antioxidant activity in moth bean. *HortScience*, v.26, p.1065-1067.
- Vázquez, M.C.N., Rodríguez, R.C.M. (2000) Brasinoesteroides: nuevos reguladores del crecimiento vegetal con amplias perspectivas para la agricultura. Documento IAC, Campinas-SP, n 68, 83p.
- Wang, Y.Q., Cosgrove, D.J., Arteca, R.N. (1994) effect of epibrassinolide on growth and fruit quality of watermelon. *Plant Physiology Communications*, v30, p423-425.
- Williams, R.R. (1993) Mineral nutrition in vitro- a mechanistic approach. *Australian Journal of Botany*, v.41, p.237-251.
- Wu, D.R., Zhao, Y.J. (1991) Effects of epibrassinolide on endogenous IAA and its oxidase in epicotyls of mung bean seedlings. *Acta Phytophysiological Sinica*, v.17, p327-332.

3.2. BRASSINOSTERÓIDE E O ESTADO NUTRICIONAL DO ABACAXIZEIRO CULTIVADO EM DOIS SUBSTRATOS

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de um análogo de brassinosteróide (BS) e de substratos sobre o crescimento e sobre os teores de N, P, e K da folha “D” do abacaxizeiro ‘Imperial’. Mudanças provenientes de micropropagação foram aclimatizadas em tubetes de 180 cm³, durante um período de 150 dias. Após esse período, as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade de 10 dm³. O experimento foi conduzido em DBC em esquema fatorial 5 x 2, no qual foram avaliadas cinco concentrações do BS e dois tipos de substratos de cultivo. As concentrações do BS utilizadas foram de 0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹. Os substratos utilizados foram o Plantmax® e outro substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro, na proporção 3:2, v:v. (BT). As concentrações do BS foram aplicadas aos 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio e reaplicadas aos 20 dias após o transplantio. Foram avaliadas 12 mudas por tratamento. O diâmetro da roseta, a largura e a espessura de folhas foram avaliados aos 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após o transplantio. Aos 180 dias após o transplantio, a folha “D” foi coletada e nela foram determinados o comprimento, a área foliar, a largura, a massa fresca e a massa seca. Na concentração de 0,3 mg L⁻¹ do BS, foi obtido o maior comprimento da folha “D”. No substrato BT foram verificados maior comprimento, área foliar, largura e massa seca da folha “D”. Nas plantas cultivadas no substrato BT, os teores de N e P foram superiores aos das cultivadas no Plantmax®, enquanto nas plantas cultivadas no Plantmax® foram verificados teores mais altos de K.

Palavras chave: *Ananas comosus*; ‘Imperial’; BIOBRAS -16; folha “D”.

ABSTRACT

BRASSINOSTEROID AND NUTRITIONAL STATUS OF PINEAPPLE PLANT CULTIVATED IN TWO SUBSTRATES

The aim of this study was to evaluate the effects of application of a brassinosteroid analogue (BS) and of two different substrates on growth. And the influences of N, P and K levels in “D” leaf of “Imperial” pineapple plant. The micropropagated seedlings were planted in small conic tubes of 180 cm³, along to 150 days. After this period the seedlings were transplanted to vases of 10 dm³ capacity. The trial was carried in randomized block design in a 5 x 2 factorial arrangement in which were evaluated five doses of BS 16 (0; 0,1; 0,3; 0,5 and 1,0 mg L⁻¹) and two kinds of substrates (a commercial one and a mix of sugarcane bagasse + filter cake in a proportion of 3:2 v.v). The concentrations of BS were applied 30, 60, 90, 120 days after being planted reapplied 20 days after being transplanted. It was evaluated 12 seedlings in each treatment. The diameter of the rosette, the width and the length of the leaves were evaluated at 30, 60, 90, 120,150 and 180 days after planting. At the 180 days after transplantation the “D” leaf was collected and it was determinated the leaf area, the width, the length, the fresh weight and the dry weight. It was observed highest “D” leaf length at 0,3 mg L⁻¹ concentration level of BS. At BT substrate it was verified highest length, width, leaf area and dry matter of “D” leaf. Plants cultivated at BT substrate showed superior levels of N and P in relation to plants cultivated at Plantmax®, while plants cultivated at Plantmax ® had highest levels of K.

Key words: ananas comosus, ‘Imperial’, BIOBRAS-16, “D” leaf.

INTRODUÇÃO

Os brassinosteróides (BR) pertencem a uma classe mais recentemente descoberta de hormônio vegetal. Como os demais hormônios, os BR são essenciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas (Yokota, 1997).

Entre os vários BR testados, o brassinolídeo (BL) e seus epímeros 24-epibrasinolídeo (EBR) e 28- homobrassinolídeo (HBR) têm sido mais efetivos em estimular respostas fisiológicas que outros compostos em ensaios de curta duração. A aplicação exógena em concentrações micromolares tem promovido o crescimento e o desenvolvimento de diversas plantas (Sun et al., 2005).

Os BR apresentam efeito comprovado sobre a divisão e o alongamento celular e sobre o crescimento das plantas (Sasse, 1997, Close e Sasse, 1998), incluindo expansão foliar (Orika Ono et al., 2000). Participam, também, de processos de tolerância das plantas a diversos tipos de estresses como, temperaturas extremas, seca, salinidade e ataque de patógenos (Krishna, 2003), podendo afetar o desenvolvimento de insetos e fungos (Sasse, 1997).

Os efeitos induzidos pelos BR não podem ser considerados de forma isolada, já que esses compostos interatuam com outros reguladores de crescimento, com sinais ambientais (principalmente qualidade da luz), estado hídrico e nutricional das plantas (Vázquez e Rodríguez, 2000). Entretanto, existem poucas informações de seu efeito sobre o estado nutricional de plantas. Altoé (2006) verificou que a concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ do BIOBRAS-16 promoveu aumento do conteúdo de P na massa seca das folhas de plantas de tangerineira 'Cleópatra'.

Os BR atuam em tecido foliar que está em crescimento ativo, e o seu efeito é observado somente em um período limitado na etapa de crescimento, que pode estar associado à fácil decomposição do composto nos tecidos e à não-retenção da forma ativa por um período longo (Vázquez e Rodríguez, 2000).

No trabalho anteriormente apresentado, foi verificado efeito do BIOBRAS-16 (BS) sobre o crescimento e o estado nutricional de mudas de abacaxizeiro durante o

período de aclimatização, fase em que as plantas encontram-se reconhecidamente sob efeito de estresse. Em outras fases de cultivo, esse efeito não foi avaliado.

No abacaxizeiro, a folha “D” é a mais jovem entre as adultas e a mais ativa fisiologicamente entre todas as folhas, razão pela qual é utilizada para avaliação do estado nutricional e para estabelecer o índice de crescimento da planta (Malézieux e Bartholomew, 2003).

O substrato de cultivo das plantas afeta o seu crescimento e estado nutricional de acordo com suas características físico-químicas (Skrebsky, 2006). Serrano et al. (2006) observou que, em comparação com um substrato comercial, o substrato produzido pela compostagem de resíduos da agroindústria canavieira promoveu maior diâmetro de caule e massa seca de raiz, além de permitir a redução dos níveis de adubação de N, P e K em porta-enxerto de limoeiro ‘Cravo’.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de um análogo espirostânico de brassinosteróide e de dois substratos no crescimento e nos teores de N, P, e K da folha “D” do abacaxizeiro ‘Imperial’.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido em casa de vegetação nas dependências da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em Campos dos Goytacazes, RJ.

O experimento foi conduzido em DBC em esquema fatorial 5 x 2 no qual foram avaliados cinco concentrações do BS e dois substratos. Os substratos utilizados foram um comercial, composto por uma mistura de casca de pinus e vermiculita (Plantmax®) e um outro obtido pela compostagem de uma mistura entre bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro (BT). O BS foi aplicado em cinco concentrações (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹) às quais foi adicionado o Tween 20 a 0,1% como agente surfactante. Foram utilizadas seis repetições e duas plantas por parcela.

A formulação BIOBRAS –16 foi preparada pelo laboratório de produtos naturais da universidade de La Habana, contendo como ingrediente ativo um análogo

espirostânico de brassinosteróide (BS) poli-hidroxilado de fórmula $C_{27}H_{42}O_5$ (Coll et al., 1995).

As mudas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merrill cv. Imperial) utilizadas no experimento foram provenientes de micropropagação. As mudas foram transferidas para tubetes com capacidade de 180 cm³ e preenchidos com os substratos, de acordo com o tratamento.

Ao substrato Plantmax®, após análise, foram adicionados 50 g dm⁻³ de calcário para elevar o pH para 6,0. O substrato BT foi obtido após compostagem de uma mistura de bagaço cana-de-açúcar e torta de filtro na proporção de 3:2, v:v. Durante o período de compostagem, a mistura foi revolvida e molhada, periodicamente, com uma solução na concentração de 6 g kg⁻¹ de uréia. Os resultados da análise química dos substratos são apresentados na Tabela 1.

Quinzenalmente, durante o período de aclimatização, foram aplicados, por planta, 10 ml de uma solução na qual a concentração de nutrientes em mg L⁻¹ foi a seguinte: N-NO₃⁻ (112); N-NH₄ (3,5); P (7,74); K (156,4); Ca (80); Mg (24,3); S (32,0); Cl (1,77); Mn (0,55); Zn (0,13); Cu (0,03); Mo (0,06); B (0,27); e Fe-EDTA (2, 23). O pH dessa solução foi ajustado para 5,5. A composição da solução empregada foi utilizada por Ramos (2006) para o abacaxizeiro 'Imperial' cultivado em areia. A cada 15 dias foram aplicada, também, 10 mL / planta de uma solução de uréia na concentração de 0,1 g L⁻¹.

Aos 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio, foram aplicadas, por aspersão foliar, as soluções com diferentes concentrações do BS (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹) na proporção de 1 mL por planta.

Após a concretização do período de aclimatização, que teve duração de 150 dias, as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade de 10 dm³. No momento do transplante, o substrato Plantmax® e o substrato BT receberam uma adubação com o fertilizante de liberação lenta Osmocote®, na formulação 17-07-12 na dosagem de 15 g por vaso. O fertilizante de liberação lenta foi misturado e homogeneizado ao substrato no momento do enchimento dos vasos. Vinte dias após o transplante das mudas, foram reaplicadas as cinco concentrações do BS

da fase de aclimatização em cada tratamento. A cada 30 dias, foram aplicadas, também, 100 mL / planta de uma solução de uréia na concentração de 1,0 g L⁻¹.

O diâmetro de roseta, a largura e a espessura das folhas foram avaliados aos 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após o transplântio. As avaliações de largura e comprimento foram feitas, em todas as épocas, numa mesma folha.

Tabela 1. Composição química de amostras dos substratos utilizados no cultivo do abacaxizeiro 'Imperial'

Substratos	pH (H ₂ O)	N	P	K	Ca	Mg	C	S	Fe	Cu	Zn	Mn
		-----g kg ⁻¹ -----						-----mg kg ⁻¹ -----				
Plantma	4,7	8,8	4,	5,	14	21	31	3,	17	28	84	23
x®		5	9	40	,6	,6	4	29	,2			5
BT*	6,0	17,	8,	2,	17	4,	26	1,	18	60	34	85
		85	99	27	,4	0	6	59	,5		8	0

* substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e a torta de filtro na proporção de 3:2, v:v

Aos 180 dias após o transplântio, a folha "D" foi coletada em todas as plantas. As folhas foram limpas com algodão umedecido com água deionizada e foram determinados a área foliar, a largura, o comprimento e a massa fresca. A área foliar foi obtida no medidor de área foliar LI-3100 area meter[®], a largura e o comprimento com o paquímetro digital. A massa seca foi obtida após as folhas terem sido submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de 72 °C, por 36 horas. Na determinação dos teores de nutrientes, foi utilizada a folha "D" inteira. Depois de secas, estas foram pesadas e trituradas em moinho tipo Willey, com peneira de 20 *mesh* e armazenadas em frasco hermeticamente fechado. Na matéria seca obtida foram determinados os teores de N, P e K.

Para as avaliações dos teores de nutrientes, foram utilizadas quatro repetições. Cada repetição foi constituída por uma amostra composta por três folhas.

As amostras foram submetidas à digestão sulfúrica. O teor de N foi determinado pelo método de Nessler. O teor de P foi quantificado colorimetricamente pelo método do molibdato. As leituras desses dois nutrientes foram feitas em espectrofotômetro da marca ZEISS modelo Spekol UV VIS. O teor de K foi determinado por espectrofotometria de emissão de chama. As metodologias para determinações desses nutrientes são descritas em Malavolta et al. (1997).

Os dados foram submetidos a análises de variância, as médias obtidas para o fator substrato foram comparadas pelo teste Tukey (5% de probabilidade) enquanto as obtidas para o fator concentração do BS foram comparadas pelo teste de Dunnett (5% de probabilidade).

Para as avaliações de crescimento realizadas em seis épocas (30, 60, 90, 120, 150 e 180), os dados foram analisados em esquema de parcelas subdivididas no tempo. As médias obtidas para o fator época foram submetidas a análises de regressão (5% de probabilidade).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas plantas cultivadas no substrato BT, o diâmetro da roseta foi maior que o das plantas cultivadas no substrato plantmax® (Tabela 2). Entretanto, não foi observado efeito dos substratos sobre a espessura e a largura de folha (Tabela 2).

Serrano et al. (2006) verificaram que um substrato composto pela mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e a torta de filtro na proporção de 3:2, v:v proporcionou maior crescimento ao porta-enxerto limoeiro 'Cravo' em diâmetro de caule, aumentou a massa seca da parte aérea e de raiz, além de permitir a redução dos níveis de adubação de N, P e K em relação ao substrato Plantmax®.

Não foi observado efeito do BS sobre o diâmetro de roseta, espessura e largura de folha ($p=0,05$). Entre a última aplicação do BS e a última avaliação dessas características, transcorreram 160 dias, o que pode ter contribuído para a ausência verificada do efeito do BS, uma vez que, segundo Vázquez e Rodríguez (2000), os

BS atuam em tecido foliar que está em crescimento ativo, e o seu efeito é observado somente em um período limitado na etapa de crescimento. Esse efeito em período de tempo reduzido pode estar associado à fácil decomposição do composto nos tecidos e à não-retenção da forma ativa por um período longo.

Kuraishi et al. (1991), trabalhando com laranja Washington Navel, verificaram que o brassinosteróide só foi efetivo quando foi adicionada a solução de polietilenoglicol para prevenir a rápida evaporação, observando assim, a importância da formulação.

Kamuro e Takatsuto (1991) verificaram a influência que as condições ambientais exercem nas respostas à aplicação dos BR em plantas de arroz crescidas em diferentes temperaturas. Os efeitos promotores de crescimento dos BR foram verificados em temperaturas baixas, enquanto em condições adequadas para o cultivo não foram verificados. Esse comportamento foi confirmado por Khripach et al. (2000), que observaram um pequeno efeito dos BR quando as condições em que as plantas foram cultivadas estavam propícias a elas.

Hayat et al. (2000) observaram, em plantas de mostarda, que houve um período específico em que a sensibilidade a um brassinolídeo foi maior e sugeriu que o brassinosteróide está envolvido na emergência de redes de interação entre órgãos em crescimento e o modo de ação dos BR depende de variações precisas de tempo de aplicação e da concentração utilizada.

Tabela 2. Valores médios, obtidos entre todas as épocas, para as características de crescimento do abacaxizeiro 'Imperial' avaliadas nos dois tipos de substrato

Substrato	Diâmetro de roseta (mm)	Largura de folha (mm)	Espessura de folha (mm)
Plantmax®	429,6 b	27,37 a	0,51 a
BT	456,8 a	28,65 a	0,55 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey 5% de probabilidade.

Para a folha “D” foi verificado maior comprimento nas plantas tratadas com a concentração de $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ do BS e nas plantas cultivadas no substrato BT (Tabela 3). O maior comprimento das folhas das plantas cultivadas no substrato BT é coerente com o maior diâmetro de roseta observado nas plantas cultivadas nesse substrato (Tabela 2). Da mesma forma, Ikekawa e Zhao (1991) verificaram que a epibrassinolida promoveu o crescimento de folhas e raízes de plantas de tabaco quando pulverizada nas folhas.

Tabela 3. Comprimento (cm) da folha “D” do abacaxizeiro coletada aos 180 dias após o transplântio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações BS (mg L^{-1})	Plantmax®	BT	Média Geral
0	42,92	49,25	46,01B
0,1	45,83	51,50	48,66 B
0,3	46,17	53,33	49,75 A
0,5	44,00	51,83	47,91 B
1,0	42,67	48,83	45,75 B
Média	44,31 b	50,95 a	47,63

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente

A área foliar da folha “D” das plantas cultivadas no substrato BT foi maior que a das plantas cultivadas no Plantmax®, em todas as concentrações do BS aplicadas, exceto na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. Verificou-se tendência negativa do efeito da concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ sobre a área foliar das plantas cultivadas no substrato BT. Assim, a área foliar das plantas cultivadas no substrato Plantmax®, na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, igualou-se à das plantas cultivadas no substrato BT (Tabela 4).

Para a característica largura da folha “D”, apenas na concentração de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ do BS, as plantas cultivadas no substrato BT foram superiores às plantas cultivadas no substrato Plantmax® (Tabela 5).

As plantas cultivadas no substrato BT apresentaram maiores valores de massa seca em relação às plantas cultivadas no substrato Plantmax®. Na concentração de 0,3 mg L⁻¹ do BS, a massa seca das plantas cultivadas no substrato Plantmax® se igualou à das plantas cultivadas no substrato BT (Tabela 6).

A análise química desses substratos é apresentada na Tabela 1 e mostra maiores teores de N, P, Cu, Zn e Mn no substrato BT. No Plantmax® foram observados maiores teores de K, Ca, Mg, S e Fe.

Na folha “D” de plantas cultivadas no substrato BT, foram verificados maiores teores de N e P (Tabela 7 e 8), enquanto no substrato Plantmax®, foi verificado maior teor de K (Tabela 9), indicando maior disponibilidade desses nutrientes nos respectivos substratos.

O substrato BT possui maior quantidade de N e P, que, provavelmente, pode ter sido o fator que influenciou no maior crescimento verificado nas plantas cultivadas nesse substrato, uma vez que esses nutrientes estão entre os que têm maior efeito sobre o crescimento de plantas.

Mudas de abacaxizeiro com deficiência de N têm crescimento lento, são raquíticas, as folhas são estreitas e pouco numerosas (Manica, 1999). Uma quantidade insuficiente de P provoca redução no crescimento da muda. As folhas ficam longas e estreitas, as raízes apresentam a parte filamentosa mais longa e menos ramificada (Souza, 1999).

Não foi verificado efeito das diferentes concentrações do BS sobre os teores de N, P e K na folha “D” do abacaxizeiro coletada aos 180 dias após o transplante (Tabelas 7, 8 e 9)

Tabela 4. Área foliar (cm²) da folha “D” do abacaxizeiro coletada aos 180 dias após o transplântio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT
0	125,58 b A	153,67 a A
0,1	135,25 b A	165,08 a A
0,3	144,00 b A	164,41 a A
0,5	128,92 b A	164,08 a A
1,0	126,83 a A	144,17 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente.

Tabela 5. Largura da folha “D” (mm) do abacaxizeiro coletada aos 180 dias após o transplântio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT
0	44,87 a A	47,39 a A
0,1	44,44 b A	48,76 a A
0,3	45,59 a A	46,60 a A
0,5	45,91 a A	48,38 a A
1,0	45,92 a A	45,96 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente

Tabela 6. Massa seca da folha “D” (g) do abacaxizeiro coletada aos 180 dias após o transplântio para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentração do BS (mg L ⁻¹)	Substrato	
	Plantmax®	BT
0	2,06 b A	2,76 a A
0,1	2,42 b A	3,12 a A
0,3	2,55 a A	2,95 a A
0,5	2,19 b A	3,10 a A
1,0	2,18 b A	2,78 a A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente.

Aos 130 dias após repicagem, Altoé (2006) não verificou efeito desse regulador de crescimento nos conteúdos de N, P, K, Ca, Mg, S e Zn na massa seca das folhas da tangerineira ‘Cleopatra’.

Os teores de N de 9,15 a 11,37 g kg⁻¹ observados na matéria seca da folha “D” de plantas com 8 meses de idade cultivadas no substrato BT (Tabela 7) estão abaixo dos valores obtidos por Ramos (2006), que variaram de 13,3 a 14,8 g kg⁻¹ em folhas “D” coletadas aos 5, 7, 9 e 12 meses em solução nutritiva completa. Siebeneichler (2002), trabalhando com o abacaxizeiro ‘Pérola’, encontrou teor foliar de N de 16,3 g kg⁻¹, na folha “D” inteira, coletada aos 7 meses, em solo arenoso. Malavolta (1992), citam um teor de 20-22 g kg⁻¹ como adequado para o abacaxizeiro na folha inteira ou na porção clorofilada, também acima do encontrado nesse trabalho.

Os teores de P encontrados na folha “D” das plantas cultivadas no substrato Plantmax® foram de 1,91 a 2,26 g kg⁻¹ e no substrato BT de 2,21 a 2,73 g kg⁻¹ (Tabela 8). Esses teores foram superiores aos encontrados por Ramos (2006), que variaram de 1,04 a 1,37 g kg⁻¹ em folhas “D” coletadas aos 5, 7, 9 e 12 meses em solução nutritiva completa e por Siebeneichler (2002), que encontrou o valor de 2,09 g kg⁻¹ na folha “D” coletada aos 7 meses em solo arenoso. Malavolta (1992), citam uma faixa de 2,1 a 2,3 g kg⁻¹ como valores adequados para o abacaxizeiro na folha “D” inteira ou em sua porção clorofilada.

Os teores de K de 37,0 a 40,9 g kg⁻¹ observados na folha “D” das plantas cultivadas no substrato Plantmax® e os de 25,37 a 27,62 g kg⁻¹ observados no substrato BT (Tabela 9) foram superiores aos encontrados por Ramos (2006), que variaram de 20,0 a 23,8 g kg⁻¹ em folhas “D” coletadas aos 5, 7, 9 e 12 meses em solução nutritiva completa e por Siebeneichler (2002) com o valor de 20,4 g kg⁻¹ analisando a folha “D” inteira coletadas aos 7 meses em solo arenoso. Malavolta (1992), citam um teor de 25 a 27 g kg⁻¹ como adequado para o abacaxizeiro na folha inteira ou porção clorofilada.

Os teores mais baixos de N observados no presente trabalho, em comparação com outros trabalhos que avaliaram a folha “D” inteira, podem ter promovido crescimento abaixo do potencial, induzindo, assim, um efeito de concentração do P e K nas folhas analisadas.

Tabela 7. Teor de N (g kg⁻¹) na folha “D” do abacaxizeiro, coletada aos 180 dias após o transplante, para cada concentração do BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações BS (mg L ⁻¹)	Plantmax®	BT	Média Geral
0	5,67	11,37	8,52 A
0,1	5,92	9,23	7,58 A
0,3	5,77	9,48	7,63 A
0,5	5,27	9,86	7,57 A
1,0	5,86	9,15	7,51 A
Média	5,70 b	9,82 a	7,76

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente

Tabela 8. Teor de P (g kg^{-1}) na folha “D” do abacaxizeiro coletada aos 180 dias após o transplântio para cada concentração de BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações BS (mg L^{-1})	Plantmax®	BT	Média Geral
0	2,12	2,63	2,38 A
0,1	2,01	2,59	2,31 A
0,3	2,26	2,73	2,49 A
0,5	1,91	2,72	2,32 A
1,0	2,12	2,21	2,16 A
Média	2,09 b	2,58 a	2,33

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente

Tabela 9. Teor de K (g kg^{-1}) na folha “D” do abacaxizeiro coletada aos 180 dias após o transplântio para cada concentração de BS e tipo de substrato utilizado

Concentrações BS (mg L^{-1})	Plantmax®	BT	Média Geral
0	39,00	27,62	33,31 A
0,1	39,62	26,75	33,19 A
0,3	40,87	26,25	33,56 A
0,5	37,00	26,12	31,56 A
1,0	38,62	25,37	32,00 A
Média	39,04 a	26,43 b	32,72

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey e pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, respectivamente

CONCLUSÕES

A avaliação da folha “D” do abacaxizeiro ‘Imperial’, coletada aos 8 meses de idade, possibilita as seguintes conclusões:

A concentração de 0,3 mg L⁻¹ do BS induz maior comprimento de folha;

O substrato composto pela mistura entre o bagaço de cana-de-açúcar e torta de filtro, na proporção 3:2, v:v induz maior comprimento, área foliar, largura, massa seca da folha e maior teor de N e P em comparação ao substrato Plantmax®, que induz maior teor de K;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Altoé, J.A. (2006) Tangerineira ‘Cleópatra’ submetida a micorrização e a um análogo de brassinosteróide. Tese (Mestrado) – Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense-UENF, 72p.

Coll, M.T., Jomarrón, R.I.M., Robaina, R.C.M., Alonso, B.E.M., Cabrera, P.M.T. (1995) Polyhydroxyspirostanones as plant growth regulators. PCT Int. Appl. Co 7571/100, AOIN 45/00WO 97/13780.

Clouse, S.D., Sasse, J.M. (1998) Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. Annual Reviews Plant Physiol. Plant Mol. Biol. v. 49. p 427-451.

- Hayat, S., Ahamad, A., Mobin, M., Hussain, A., Fariduddin, Q. (2000) Photosynthetic rate, growth and yield of mustard plants sprayed with 28-homobrassinolide. *Photosynthetica*, v.38,n.3, p.469-471.
- Ikekawa, N., Zhao, Y.J. (1991) Application of 24-epibrassinolide in agriculture. In Cutler, H.G., Yokota, T., Adam, G. (Eds) *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and applications*. Washington: American Chemical society. Cap.24. p 280-291
- Kamuro, Y., Takatsuto, S. (1991) capability for and problems of practical uses of brassinosteroids. In; Cutler H.G., Yokota, T. and Adams, G.(eds) *Brassinosteroids. Chemistry, bioactivity and application*, American Chem. Soc, Washington Dc, USA. cap. 25, p292-297.
- Khripach, V., Zhabinskii, V., Groot, A . (2000) Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. *Annals of Botany*. London, v. 86, p. 441-447.
- Kuraishi, S., Sakurai, N., Eun, J.S., Sugiyama, K. (1991) Effect of brassinolide on levels of indoleacetic acid and abscisic acid in squash hypocotyls. Possible application for preventing fruit abortion In; Cutler H.G., Yokota, T. and Adams, G.(eds) *Brassinosteroids. Chemistry, bioactivity and application*, American Chem. Soc, Washington Dc, USA. cap. 28, p312-319.
- Malavolta, E. (1992) *ABC da análise de solos e folhas: amostragem, interpretação e sugestões de adubação*. São Paulo: Agronômica Ceres. 124p.
- Malavolta, E., Vitti, G.C., Oliveira, S.A. (1997) *Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações*. 2ed. piracicaba-SP, POTAFOS, 319p.
- Malézieux, E., Bartholomew, D.P. (2003) Plant Nutrition. In: *The pineapple Botany*,

production and uses. Bartholomew, D.P., Paull, R.E., Rohrbach, K.G. CABI publishing. University of Hawaii at Manoa. p 143-165.

Manica, I. (1999) Fruticultura Tropical 5: Abacaxi. Ed cinco continentes. Porto Alegre-RS. 501p.

Orica Ono, E., Nakamura, T., Machado, S.R., Rodrigues, J.D. (2000) Application of brassinosteroid to *Tabebuia Alba* (Bignoniaceae) plants. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal. Campinas-SP. 12(3), p187-194.

Ramos, M.J.M (2006) Caracterização de sintomas de deficiência de macronutrientes e de boro em abacaxizeiro cultivar imperial. Tese (Doutorado) – Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense-UENF, 95p.

Reuter, D.J., Robinson, J.B. (1988) Plant analysis – an interpretation manual. Melbourne: Inkata Press, 218p.

Sasse, J.M. (1997) Recent progress in brassinosteroid research. Physiologia Plantarum, v.100, p696-701.

Serrano, L.A.L., Marinho, C.S., Barroso, D.G., Carvalho, A.J.C. (2006) Sistema de blocos prensados e doses de adubo de liberação lenta na formação de porta-enxerto cítrico. Ciência Rural. Santa Maria-RS, v.36, n.2, p.441-447.

Siebeneichler, S.C (2002). Composição mineral da folha em abacaxizeiro: Efeito da parte da folha analisada. Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal-SP, v.24, n.1, p.194-198.

- Skrebsky, E.C., Nicoloso, F.T., Maldaner, J. (2006) Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (spreng) Pedersen produzida in vitro sob diferentes doses de sacarose. *Ciência Rural*, Santa Maria-RS, v.36,n.5 p1416-1423.
- Souza, L.F. (1999) Correção de acidez e adubação. In: Cunha, G. A.P., Cabral, J.R.S., Souza, L.F. S. *O Abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia* EMBRAPA, Brasília-DF.p.169-202.
- Sun, Y., Veerabomma, S., Abdel-Mageed, H.A. (2005) Brassinosteroid regulates fiber development on cultured cotton ovules. *Plant and Cell Physiology*, v.46,n.8,p.1384-1391.
- Vázquez, M.C.N., Rodríguez, R.C.M, Zullo, M.A.T. (2000) Brasinoesteroides: nuevos reguladores del crecimiento vegetal con amplias perspectivas para la agricultura. Documento IAC, Campinas-SP, n 68, 83p.
- Yokota, T. (1997) The structure, biosynthesis and function of brassinosteroids. *Trends in Plant science*, v.2, p137-143.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da aplicação de diferentes concentrações de um análogo de brassinosteróide (BS) e do uso de dois substratos sobre o crescimento e sobre os teores de N, P e K no abacaxizeiro 'Imperial' proveniente de micropropagação. Com esta finalidade foram realizados dois experimentos, sendo um deles conduzido no período de aclimatização das mudas e o outro trabalho no período de crescimento da planta.

Primeiro experimento

O primeiro experimento foi conduzido sob delineamento em blocos casualizados, num esquema fatorial 5 x 2 x 4, onde foram avaliadas cinco concentrações do BS (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1 mg L⁻¹), dois tipos de substratos e quatro épocas de amostragem (60, 90, 120 e 150 dias após plantio). Os substratos utilizados foram o Plantmax® e outro substrato obtido pela compostagem de uma mistura entre o bagaço de cana e torta de filtro (BT). Foram utilizadas 6 repetições e parcelas constituídas por duas plântulas. Trinta dias após o plantio das mudas foram aplicadas as cinco concentrações do BS. Esses tratamentos foram aplicados por aspersão foliar, nas concentrações mencionadas, na razão de 1mL por planta, utilizando-se o Tween 20 a 0,1% como agente surfactante, de acordo com recomendações de Núñez, et al. (1996). Cada concentração foi reaplicada aos 60, 90 e 120 dias após o plantio. A cada trinta dias foram medidos o diâmetro de roseta e a largura das folhas e contado o número de folhas. A coleta de plantas teve início trinta dias após a primeira aplicação do BS, finalizando-se aos 150 dias após o plantio. Em cada época de amostragem, foram obtidas as massas secas da parte aérea e raízes. Para a determinação dos nutrientes minerais a parte aérea foi triturada em moinho tipo Willey, com peneira de 20 *mesh*. A amostra para análise foi composta pela parte aérea das quatro plântulas de cada parcela. Na matéria seca obtida foram determinados os teores de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K). Os dados foram

submetidos a análises de variância, as médias obtidas para o fator substrato foram comparadas pelo teste Tukey (5% de probabilidade) enquanto as obtidas para o fator concentração do BS foram comparadas pelo teste de Dunnett (5% de probabilidade). As médias obtidas para o fator época foram submetidas a análises de regressão (5% de probabilidade).

Segundo experimento

No período de aclimatização, as mudas foram cultivadas em dois tipos de substratos (Plantmax® e BT). Trinta dias após o plantio das mudas foram aplicadas cinco concentrações do BS (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹). Esses tratamentos foram aplicados por aspersão foliar, na razão de 1mL por planta. Cada concentração foi reaplicada aos 60, 90 e 120 dias após o plantio. Após a concretização do período de aclimatização, as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade de 10 dm³. Vinte dias após o transplantio das mudas foram reaplicadas as cinco concentrações do BS. O experimento foi conduzido sob delineamento em blocos casualizados, num esquema fatorial 5 x 2 no qual foram avaliadas as cinco concentrações do BS e os dois tipos de substrato. As características de diâmetro de roseta, largura e comprimento de folhas foram avaliadas a cada trinta dias (30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias após o transplantio). Foram utilizadas 6 repetições, sendo a parcela constituída por duas plântulas. Aos oito meses após o transplantio, a folha “D” foi coletada e nela determinados o comprimento, a área foliar, a largura, a massa fresca e seca. Na matéria seca obtida foram determinados os teores de N, P e K. Os dados foram submetidos a análises de variância, as médias obtidas para o fator substrato foram comparadas pelo teste Tukey (5% de probabilidade), enquanto as obtidas para o fator concentração do BS foram comparadas pelo teste de Dunnett (5% de probabilidade). Os dados das avaliações de crescimento, realizadas em seis épocas, foram avaliados em esquema de parcelas subdivididas no tempo. As médias obtidas para o fator época foram submetidas a análises de regressão (5% de probabilidade).

Conclusão Geral:

O BS e o substrato BT promoveram maior crescimento da parte aérea das mudas do abacaxizeiro 'Imperial' no período de aclimatização. As concentrações do BS que proporcionaram o maior acúmulo de massa seca da parte aérea, aos 150 dias após plantio, foram as que estimularam os maiores teores e conteúdos de N e P na parte aérea das plantas no período inicial de aclimatização. A aplicação de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ do BS nas plantas cultivadas no substrato BT proporcionou um acúmulo de massa seca de 1,8 vezes maior que o da testemunha cultivada no substrato Plantmax®. Na fase de aclimatização, o BS pode ser utilizado para acelerar o crescimento do abacaxizeiro e proporcionar a obtenção de mudas aclimatizadas em menor período de tempo. Verificou-se maior comprimento, área foliar, largura e massa seca da folha "D", assim como maiores teores de N e P nas plantas de abacaxizeiro cultivadas no substrato BT. Na fase posterior à aclimatização, foi verificada menor eficiência do BS em promover o crescimento das plantas. Nessa fase, observou-se maior comprimento, área foliar, largura e massa seca da folha "D", assim como maiores teores de N e P nas plantas de abacaxizeiro cultivadas no substrato BT.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, M. (1989) Los sustratos em horticultura ornamental. Revista Agrícola Vergel. v.3 p146-152.
- Almenares, J.C., Cuñarro, R., Fito, E., Moreno, I., Ravelo, R. (1999) Influencia de diferentes dosis y momentos de aplicación Del BIOBRAS-16 en el cultivo del maíz. Cultivos Tropicales, v.20, p 77-79.
- Braun, P., Wild, A. (1984) The influence of brassinosteroid on growth and parameters of photosynthesis of wheat and mustard plants. Journal of Plant Physiology.v.116, p.189-196.
- Cabral, J.R.S., Matos, A.P., Junghans, D.T. (2003) Desenvolvimento de variedades de abacaxi resistentes a fusariose. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/cnmpf>. Acesso em 2 de maio de 2004.
- Campos, G.A., Catunda, P.H.A., Gomes, M.M.A., Siqueira, L.N, Ferraz, T.M., Dias W.I.R., Pereira,T.N.S., Zullo, M.A.T., Núñez-Vazquez, M. (2003) Influência da utilização de hormônios vegetais na indução de enraizamento em quatro espécies de *Passiflora*. 6^o. Simpósio Brasileiro sobre a cultura do maracujazeiro. Campos dos Goytacazes-RJ. P.72.
- Campostrini, E., Otoni, W.C (1996) Aclimatização de plantas: abordagens recentes. Boletim da ABCTP. Brasília-DF, n.25, p2-12.

- Catalá, C., Rose, J.K.C., Bennett, A.B. (1997) Auxin regulation and spatial localization of endo-1,4- β -D-glucanase and xyloglucan endotransglycosylase in expanding tomato hypocotyls. *Plant. J.*, v.12, n.2, p.417-426.
- Chalfoun, S.M. (1998) A abacaxicultura brasileira e o mercado globalizado: In Informe Agropecuário. Belo Horizonte, v.19, n.195, p5-6.
- Cortes, P.A., Terrazas, T., León, T.C., Saavedra, A.L. (2003) Brassinosteroid effects on the precocity and yield of cladodes of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L) Mill.). *Scientia Horticulturae*, n.97, p.95-73.
- Coutinho, M. Carvalho, E.J.M. (1983) Caracterização de propriedades de alguns substratos para a propagação de mudas. *Bragantia*, Campinas, v.14, p.167-176.
- Creelman, R.A., Mullet, J.E. (1997) Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates: Nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression. *Plant cell* 9, 1211-1223.
- Denng, R. Donnelly, D.J. (1993) In vitro hardening of red raspberry through CO₂ enrichment and relative humidity reduction on sugar-free medium. *Can.J. Plant.Sci.* v.73, p.1105-1113.
- Donnelly, D.J., Vidaver, W.E. (1984) Leaf anatomy of red raspberry transferred from culture to soil. *Journal of the American society for Horticulture Science.* n.109, p.172-176.
- Fabri, E.G., Sala, F.C., Minami, K., Melo, P.C.T., Favoreto, P., Dias, C.T.S., Abreu, M.F. (2005) Avaliação de substratos orgânicos na produção de mudas. II Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas. Fortaleza-CE. 375p.

FAOSTAT, (2006). Disponível: Site <http://www.faostat.fao.org> - Acesso em 20 de novembro 2006.

FAOSTAT, (2007). Disponível: Site <http://www.faostat.fao.org> - Acesso em 2 de fevereiro de 2007.

Fauth, A., Tofol, M., Silva, A.L., Maraschin, M. (1994) Aclimatização de mudas de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merr.), resistentes a fusariose cultivadas in vitro. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Cruz das almas-BA, v.16, n.2, p.7-12.

Ferreira, F.R., Giacometti, D.C., Bianchetti, L.B., Cabral, J.R.S. (1992) Coleta de germoplasma de abacaxizeiros (*Ananas comosus* (L.) Merrill) e espécies afins. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Cruz das almas-BA, v.14, n.2, p.5-11.

Fonseca, E.P. (1988) Efeito de diferentes substratos na produção de mudas de *Eucalyptus grandis* w. Hill ex maiden em "Win-Strip". (Tese de Mestrado) Viçosa-MG, Universidade Federal de Viçosa-UFV. 81p.

Fujioka, S., Sakurai, A. (1997) Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Physiologia Plantarum*, v.100, p710-715.

Fujioka, S., Yokota, T. (2003) Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. *Ann.Rev.Plant.Biol.* v.57., p137-164.

George, E.F.(1993) *Plant Propagation by Tissue Culture-The technology*. 2.ed. Edington: Exegetics. 574p.

Gomes, J.M., Silva, A.R. (2004) Os substratos e sua influência na qualidade de mudas. In: Barbosa, J.G., Martinez, h.E.P., Pedrosa, M.W., Sedyama, M.A.N. (eds) *Nutrição e adubação de plantas cultivadas em substrato.IV ENSUB*, Viçosa-MG.p 190-226.

- Gómez, R. (1996) Empleo de sustancias boirreguladoras (Biobras-6) en la conversión y adaptación de plantas de fruta bomba (*Carica papaya L.*) var. Maradol Rojo obtenidas a partir de embriones somáticos. In coloquio internacional de biotecnología de las plantas, 4., Universidade central de Vila Clara. 58p.
- González R, R., Quintín, M.D., Expósito, L.A., González, J.L., Martínez, T. Hidalgo, M. (1997). Effectiveness of eight strains of azotobacter on the adaptation of tissue cultured plantlets of pineapple (*Ananas comosus (L.) Merr.*), CV 'Smooth Cayenne'. *Acta Horticulturae*, n. 425, p.277-284.
- Gottardi, M.V.C., Lemos, E.G.M., Ruggiero, C. (2002) Avaliação por RAPD de plantas de abacaxizeiro cultivar smooth cayenne derivadas do seccionamento de talo e cultura de tecidos. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal-SP, v.24, n.1, p 1-5.
- Gualberto, R., Oliveira, P.S.R., Favoreto, A.J., Motta Filho, C. (2000) avaliação de substratos comerciais na produção de mudas de cafeeiro. In: XXVI Congresso brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. Marília-SP, 21-24 de novembro de 2000.
- Grattapaglia, D., Machado, M.A (1998) Micropropagação. In: Torres, A.C., Caldas, L.S. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasília: ABCTP/EMBRAPA. v.2, p183-260.
- Hernández, M. (1994) Empleo de brasinoesteroides para la diferenciación de callos de papa (*Solanum tuberosum L.*) In: seminario científico, 9, La Habana. Instituto Nacional de Ciências Agrícolas. Cultivos tropicales, 15. p78.

Hoffmann, A (1999) Enraizamento e aclimatização de mudas micropropagadas dos porta-enxertos de macieira ' Marubakaido' e ' M 26'. Tese (Doutorado UFLA) Lavras-MG,240p.

Hoffmann, A., Pasqual, M., Chalfun, N.N.J., Fráguas, C.B. (2001) Efeito de substratos na aclimatização de plantas micropropagadas do porta-enxerto de macieira 'Marubakaido'.Ciência agrotecnica. Lavras-MG, v.25, n.2, p.462-466.

Khripach, V., Zhabinskii,V., Groot, A . (2000) Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. Annals of Botany.London, v. 86, p. 441-447.

Kiehl, E.J. (1985) Fertilizantes orgânicos. São Paulo-SP Editora Agronômica Ceres, p.178-182.

Kozai, T., Kitaya, Y. (1995) Environmental control for large scale production of in vitro plantlets. In Terzi, M, Cella, R. Falavigna, A. (eds) Current Issues in Plant molecular and Cellular Biology. Kluwer Academic publishers, London. P. 659-667.

Kozai, T., Koyama, Y., Watanabe, I. (1988). Multiplication of potato plantlets in vitro with sugar free media under photosyntetic photon flux. Acta Horticulturae, Wageningen, n.230, p121-127.

Kulaeva, O.N., Burkhanov, E.A., Fedina, A.B. Khokhlova, V.A., Bokebayeva,G.A., Vorbrodt, H.M. and Adam, G. (1991) Effect of brassinos tereroids on protein synthesis and plant cell ultra structure under stress. In; Cutler H.G., Yokota, T. and Adams, G.(eds) Brassinosteroids. Chemistry, bioactivity and application, american Chem. Soc, washington Dc, USA.p.141-145.

- Leme, E.J.A. (1993) Uso e tratamento de resíduos agroindustriais no solo. In: Câmara, G.M.S., Oliveira, E.A.M. (eds.) Produção de cana-de-açúcar. Piracicaba-SP FEALQ, p.147-173.
- Mandava, N.B. (1988) Plant growth-promoting brassinosteroids. Annual Reviews Plant Physiol. Plant Mol. Biol. V. 39. p 23-52.
- Marin, J.A., Gella, R., Herrero, M. (1988) Stomatal structure and functioning as a response to environmental changes in acclimatized micropropagated *Prunus cerasus* L. Annals of Botany. London, v.62, p. 663-670.
- Marquardt , V., Adam, G.(1991) Recent advances in brassinosteroid research. Chemistri of Plant Protection,v.7, p103-139.
- Mirabal, M., Herrera, R. (1998) Efecto del BIOBRAS-16 en algunos indicadores morfológicos de la hierba de guinea (*panicum maximum*). In: Seminario Científico, 11. La Habana. Instituto Nacional de Ciencias agrícolas. P124.
- Mitchell.J.W., Mandava, N.B., Worley, J.F., Plimmer, J.R., Smith, M.V.(1970) Brassins: a new family of plant hormones from rape pollen. Nature,225:p1065-1066.
- Moreira, M.A (2001) Produção e aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro *Ananas comosus* (L) Merrill cv. Pérola. Tese (Doutorado UFLA) Lavras-MG, 81p.

- Morgado, I.F. (1998) resíduos agro-industriais prensados como substrato para a produção de mudas de *Eucalyptus grandis* Hill wx Maiden e *Saccharum*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal)- Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 102p.
- Morillon, R., Catterou, M., Sangwan , R.S., Sangwan, B.S., Lassalles, J.P. (2001) Brassinolide may control aquaporin activities in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, v.212, n.2, p.199-204.
- Núñez, M., Domingos, J.P., Torres, W., Coll, F., Alonso, E., Benítez, B. (1994) Influencia de análogos de brasinoesteroides en el rendimiento de diferentes cultivos hortícolas Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, p123.
Cultivos Tropicales. 15.p.87.
- Núñez, M., Domingos, J.P., Torres, W., Coll, F., Alonso, E., Benítez, B. (1995) Influencia de un análogo de brasinoesteroides en el BIOBRAS-6 en el rendimiento de plantas de tomate cultivar INCA-17 . *Cultivos Tropicales*. 16 (3). p.49-52.
- Ozdemir, F., Bor, M., Demiral, T., Turkan, I. (2004) Effectes of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress. *Plant Growth Regulation*. Netherlands, v. 42, p 203-211.
- Pasqual, M., Moreira, M.A., Sobrinho, A.A (1998) Biotecnologia aplicada à produção de mudas de abacaxi: In Informe Agropecuário. Belo Horizonte, v.19, n.195, p20-23.
- Pasqual, M. (2001) Introdução: Fundamentos Básicos. Curso de Pós-Graduação "Lato Sensu". Cultuta de Tecidos Vegetais, Lavras, UFLA/FAEPE, 97p.

- Peñalver, D.A.; Terry, F.J.; Rodríguez, M.A.D. (1998). Aclimatización. In: Ponce, J.N.P. Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Vila Clara-Cuba. P.193-201.
- Pereira, A.B., Sodr , G.A., Netto, N.N.S., Tom s, A.F., Nascimento, V. (2003) avalia o de substratos na aclima a o de mudas *in vitro* de abacaxi ornamental (*Ananas lucidus* Miller.). In I Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas. Anais ..., Lavras-MG, 5 a 9 de outubro de 2003.p258.
- Pita, O. Cuellar, A.Y., Coll, F., Robaina, C. (1998) Efecto de diferentes concentraciones de un análogo de brasinoesteroide DI-31 en el rendimiento y calidad del tabaco. In: Seminario Científico, 11. La Habana. Instituto Nacional de Ciencias agrícolas. P123.
- Piza, I.M.T., Lima, G.P.P., Brasil, O.G. (2001) Reguladores vegetais na micropropaga o do abacaxizeiro. Revista Ceres.Viçosa-MG, v.48, n.280,p 681-690.
- Pospisilov , J., Tich ,I., Kadlec k, P., Haisel, D., Pliz kov  (1999) Acclimatization of micropropagated plants to ex vitro conditions. Biologia Plantarum. n.42 (4): p.481-497.
- Py, C. (1969) La pi a tropical. Barcelona: Blume, 278p.
- Reinhardt, D. H., Souza, L.F. da S., Cunha, G.A.P. (1996) Manejo do abacaxi 'Pérola' para produ o de rebent es. . Revista Brasileira de Fruticultura. Cruz das Almas-BA, v.18, n.3, p.319-327.
- Reinhardt, D. H. (1998) Manejo e produ o de mudas de abacaxi: In Informe Agropecuário.Belo Horizonte, v.19, n.195, p13-19.

- Reinhardt, D. H., Almeida, O.A. (1999) Irrigação In: Cunha, G.A.P., Cabral, J.R.S., Souza, L.F.S. O abacaxizeiro, cultivo, agroindústria e economia. Brasília-DF, EMBRAPA, c.8, p 203-226.
- Reinhardt, D. H., Souza, L.F.S., Cabral, J.R.S. (2000), Abacaxi. Produção: aspectos técnicos. (Frutas do Brasil 7) EMBRAPA, Brasília-DF.77p.
- Rodrigues, P.H.V., Lima, A.M.L.P., Ambrosano, G.M.B., Dutra, M.B.F. (2003) Aclimatização de mudas micropropagadas de helicônia (Heliconiaceae). In I Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas. Anais ..., Lavras-MG, 5 a 9 de outubro de 2003.p289.
- Rogalski, M., Moraes, L.K.A., Felisbino, C., Crestani, L., Guerra, M.P., Silva, A.L. (2003) Aclimatização de porta-enxertos de *Prunus* sp. micropropagados. Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal-SP, v.25, n.2,p 417-423.
- Rosales, A.L., Martinez, L. Jomarrón, I. (1995) Efecto de la aplicación de biorreguladores en el cultivo del tomate. In taller de productos bioativos, 1e taller de brassinosteroides, 4. La Habana. Instituto Nacional de Ciencias agrícolas.
- Santos, C.B., Longhi, S.J., Hoppe, J.M., Moscovich, F. A. (2000) Efeito do volume de tubetes e tipos de substrato na qualidade de mudas de *Cryptomeria japonica* (L.F.) D. Don. Ciência Rural, Santa Maria-RS, v.10, n.2,p 1-15.
- Sasaki, H. (2002) Brassinolide promotes adventitious regeneration from cauliflower hypocotyl segments. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Netherlands, v. 71, p 111-116.

Schiavo, J.A. (2001) Produção de mudas de goiabeira (*Psidium guajava*) e *Acácia mangium* colonizadas com fungos micorrízicos arbusculares, em blocos prensados, confeccionados com resíduos agro-industriais. Tese (Mestrado em Produção Vegetal)- Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 86p.

Schmitz, J.A.K., Souza, P.V.D., Kämpf, A.N. (2002) Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para o cultivo de mudas em recipientes. *Ciência Rural*. Santa Maria-RS, v.32, n.6,p. 937-944.

Serrano, L.A.L. (2003) Sistemas de produção e doses de adubo de liberação lenta na formação de porta-enxerto cítrico (*Citrus limonia* Osbeck cv.cravo).Tese (Mestrado em Produção Vegetal)- Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF,96p.

Shimada, Y., Goda, H., Nakamura, A., Takatsuto, S., Fujioka, S., Yoshida, S. (2003) Organ-specific expression of brassinosteroid biosynthetic genes and distribution of endogenous brassinosteroids in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, v.131, n.1, p. 287-297.

Silva, A.B., Pasqual, M., Maciel, A.L.R., Dutra, L.F. (2003) BAP e substratos na aclimatização de plântulas de *Gloxínea* (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) provenientes de cultura de tecidos. *Ciência agrotecnica*. Lavras-MG, v.27, n.2, p.255-260.

Souza, F.X. (2001) Materiais para formulação de substratos na produção de mudas e no cultivo de plantas envasadas. Fortaleza, Embrapa-CNPAT. (documento, 43). 21p.

- Sutter, E.G., Hutzell, M. (1984) Use of humidity tents and antitranspirants in the acclimatization to tissue-cultured plants to greenhouse. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.23, n4, p.303-312.
- Sutter, E.G.; Novello, V.; Shackel, K. Physiological and anatomical aspects of water stress of cultured plants. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n230, p 113-119, 1988.
- Tagliacozzo, G. M. D. (1998) Fitormônios e seus efeitos biológicos in vivo e in vitro. In: Tombolato, A.F.C., Costa, A.M.M. Micropropagação de plantas ornamentais. Boletim Técnico N^o 174. Instituto Agronômico, Campinas-SP. P58-62.
- Takatsuto, S. (1994) Brassinosteroids: distribution in plants, bioassays and microanalysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography*, n. 658, p. 3-15.
- Teixeira, J.B., Cruz, A.R.R., Ferreira, F.R., Cabral, J.R.S. (2001) Biotecnologia aplicada à produção de mudas. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*. n.19. p.42-47.
- Van Huylenbroeck, J.M., Piqueras, A., Debergh, P.C. (1988) Photosynthesis and carbon metabolism in leaves formed prior and during ex vitro acclimatization of micropropagated plants. *Plant Science*, n.134. p 21-30.
- Vázquez, M.C.N., Rodríguez, R.C.M, Zullo, M.A.T. (2000) Brasinoesteroides: nuevos reguladores del crecimiento vegetal con amplias perspectivas para la agricultura. Documento IAC, Campinas-SP, n 68, 83p.

- Yopp, J.N., Mandava, N.B., Sasse, J.M. (1981) Brassinolide, a growth-promoting steroidal lactone. I. active in selected auxin bioassays. *Physiol. Plant.* n.53, p.445-452.
- Zemke, J.M., Pereira, F., Lovato, P.E., Silva, A.L. (2003) Avaliação de substratos para inoculação micorrízica e aclimatização de dois porta-enxertos de videira micropropagados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília-DF, v.38, n.11, p.1309-1315.
- Zimmerman, R.H. (1981) Micropagation of fruit plants. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n. 227, p.489-499.
- Zimmerman, R.H. (1988) Micropagation of woody plants: post tissue culture aspects. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n. 120, p.217-222.
- Ziv, M., Schwartz, A., Fleminger, D. (1987) Malfunctioning stomata in vitreous leaves of carnation (*Dianthus caryophyllus*) plants propagated in vitro: implications for hardening. *Plant. Sci.*, 52, p.127-134.
- Ziv, M. (1995) In vitro acclimatization. In: Aitken-Christie, J., Kozai, T., Smith, M.L.A. (eds) *Automation and environmental control in plant tissue culture*. Dordrecht, Kluwer academic Publishers, p.493-516.
- Zullo, M.A.T., Adam, G. (2002) Brassinosteroid phytohormones- structure, bioactivity and applications. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. Campinas, v.14, n.(3), p.143-181.

Weber, O. B., Correia, D., Silveira, M.R.S., Crisóstomo, L.A., Oliveira, E.M., Sá, E.G.(2003) Efeito da bactéria diazotrófica em mudas micropropagadas de abacaxizeiros Cayenne Champac em diferentes substratos. Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília-DF, v.38, n.6, p.689-696.

Yepes, L.M., Aldwinckle, H.S. (1994) Micropropagation of thirteen *Malus* cultivars and rootstock, and effect of antibiotics on proliferation, Plant Growth Regulation, Dordrecht, v.