



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



ANTONIA NEIDILÊ RIBEIRO MUNHOZ

**CONDIÇÕES *IN VITRO* DE *ANANAS COMOSUS* VAR. *ERECTIFOLIUS* E *BRACTEATUS*
PARA CONSERVAÇÃO E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS**

MANAUS-AM

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



ANTONIA NEIDILÊ RIBEIRO MUNHOZ

**CONDIÇÕES *IN VITRO* DE *ANANAS COMOSUS* VAR. *ERECTIFOLIUS* E *BRACTEATUS*
PARA CONSERVAÇÃO E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Dr. Luiz Antonio de Oliveira

Coorientador: Dr. Daniel da Silva

Área de Concentração: Biotecnologias para a saúde

MANAUS-AM
2024

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

-
- M966c Munhoz, Antonia Neidilê Ribeiro
 Condições in vitro de Ananas comosus var. erectifolius e bracteatus para
 conservação e aplicações biotecnológicas / Antonia Neidilê Ribeiro
 Munhoz. - 2024.
 161 f. : il., color. ; 31 cm.
- Orientador(a): Luiz Antonio de Oliveira.
 Coorientador(a): Daniel da Silva.
 Tese (doutorado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de
 Pós-Graduação em Biotecnologia, Manaus, 2024.
1. Ananas comosus. 2. Germinação in vitro. 3. Calogênese. 4. Luz de
 LED. 5. Cultura de tecidos. I. Oliveira, Luiz Antonio de. II. Silva, Daniel
 da. III. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação
 em Biotecnologia. IV. Título
-

ANTONIA NEIDILÊ RIBEIRO MUNHOZ

**CONDIÇÕES *IN VITRO* DE *ANANAS COMOSUS* VAR. *ERECTIFOLIUS* E *BRACTEATUS*
PARA CONSERVAÇÃO E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS**

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade
Federal do Amazonas, como requisito para obtenção
do título de Doutor em Biotecnologia. COMISSÃO
EXAMINADORA:

Orientador: Professor Dr. Luiz Antonio de Oliveira

Aprovado em 20/12/2025

BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. Luiz Antonio de Oliveira

Orientador – Presidente da Banca

Prof. Dr. Rogério Eiji Hanada (Membro)

Profa. Dra. Isanete Geraldini Costa Bieski (Membro)

Prof. Dr. Edson Junior do Carmo (Suplente)

Profa. Dra. Simone Silva (Membro)

Manaus, 20 de dezembro de 2024.

DEDICATÓRIA

Dedico esta obra a minha família que sempre me apoia incondicionalmente, seja em oração, seja na labuta da pesquisa, vestindo um jaleco para regar as plantas na véspera do Natal, sejam nos finais de semana nas lavagens das vidrarias. Não importa o serviço, seja pequeno ou grande, seja visível ou não. Eles estão sempre ao meu lado. Amo vocês para sempre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus, por me sustentar nos momentos mais difíceis em Fé e Esperança. Quando tudo parecia sem solução, Ele nos provia com algo ou alguém para nos ajudar fosse presencialmente ou fosse distante, até mesmo de outros países.

A minha família, meus filhos e em especial minha filha Priscila Mikellen Ribeiro Munhoz que não mediu esforços em me auxiliar nas tarefas mais árduas e entediantes nos procedimentos da rotina do laboratório, indo até nos finais de semana.

Ao meu esposo José Walfredo Nascimento Munhoz, que me acompanhou nas horas das madrugadas, suportou minhas crises de angústias, meus momentos de dúvidas e incertezas, me motivando, aconselhando, orando.

Ao meu orientador Professor Dr. Luiz Antonio de Oliveira, que me apoiou, e me acolheu, como ele mesmo dizia como filha adotada. Ao senhor, meu orientador e amigo, que muitas vezes me abraçou, orou comigo, mais também soube me conduzir e para que eu não perdesse o foco dos meus objetivos, me chamando atenção quando deveria e me fez ver sempre que eu ainda precisava crescer, e aprender muito e com humildade e dedicação se chega longe e quem sabe um dia construir um legado. A você minha gratidão eterna.

Ao meu coorientador Dr. Daniel da Silva, meu agradecimento, que me ensinou os primeiros passos na Cultura de Tecido, aprendizado este, que fez me apaixonar desde o nosso primeiro treinamento, me fez ver o mundo das possibilidades que a Biotecnologia Vegetal poderia nos proporcionar não só como profissão, mas como aprendizado para vida, a ouvir as plantas e ter muita paciência, a fazer do processo de micropropagação uma terapia para a Alma, onde as coisas nem sempre precisam ser com tanta pressa, e que devagar e tudo se encaixa no seu tempo. Muito obrigada.

Aos Professores (as) Dr. Paulo de Tasso, Dr. Gil Vieira, Dra. Raquel e toda sua equipe do LASTED que me receberam de braços abertos, sempre dispostos a ajudar, a orientar e compartilhar seus conhecimentos profissionais e de vida. Meu muito obrigada.

As minhas colegas Gloria Cecilia Macia Ruiz, Yvone Cantuaria e Suiane Saraiva dos Santos, mas em especial a Glorinha que nos ajudávamos nas regas das nossas mudas, nas nossas fotos para a pesquisa, em todo o apoio. Serei sempre grata a vocês. Um grande abraço muito carinhoso.

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para
que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas
Graças a Deus, não sou o que era antes”.*

(Marthin Luther King)

RESUMO

A tese aborda a bioprospecção e cultura in vitro de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, com foco nos processos de germinação, regeneração e extração de bromelina. O objetivo geral foi avaliar os efeitos dos espectros de luz e concentrações hormonais na germinação e desenvolvimento in vitro dessas variedades. A metodologia incluiu quatro experimentos: assepsia e germinação in vitro (artigos 1 e 2), regeneração de plântulas (artigo 3) e indução de calos friáveis (artigo 4). No artigo 1, a luz LED branca promoveu a maior taxa de germinação (98,95% em *Ananas comosus* var. *bracteatus*) a 25°C. No artigo 2, o LED colorido (azul-vermelho) favoreceu o desenvolvimento radicular e foliar, especialmente em *Ananas comosus* var. *erectifolius*. No artigo 3, a iluminação LED branca combinada com o meio B5 foi mais eficaz para a regeneração de plântulas, enquanto o meio MS promoveu maior formação de calos. Finalmente, no artigo 4, a concentração de 2,4-D e BAP foi essencial para a indução de calos, mas o excesso de auxinas causou rigidez e senescência precoce. Os resultados fornecem bases para protocolos otimizados de micropropagação e regeneração dessas variedades com potencial ornamental e farmacêutico.

Palavras-chave: *Ananas comosus*, germinação in vitro, calogênese, luz LED, cultura de tecidos.

ABSTRACT

This thesis explores the bioprospecting and in vitro culture of *Ananas comosus* var. *erectifolius* and *Ananas comosus* var. *bracteatus*, focusing on germination, regeneration, and bromelain extraction processes. The main objective was to evaluate the effects of light spectra and hormonal concentrations on the in vitro germination and development of these varieties. The methodology included four experiments: asepsis and in vitro germination (articles 1 and 2), seedling regeneration (article 3), and friable callus induction (article 4). In article 1, white LED light promoted the highest germination rate (98.95% in *Ananas comosus* var. *bracteatus*) at 25°C. In article 2, colored LED (blue-red) enhanced root and leaf development, particularly in *Ananas comosus* var. *erectifolius*. Article 3 demonstrated that white LED lighting combined with B5 medium was more effective for seedling regeneration, while MS medium promoted more callus formation. Finally, in article 4, the concentration of 24-D and BAP was essential for callus induction, but excessive auxin caused rigidity and early senescence. These findings provide a basis for optimized micropropagation and regeneration protocols for these ornamental and pharmaceutical potential varieties.

Keywords: *Ananas comosus*, in vitro germination, callogenesis, LED light, tissue culture.

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Referencial Teórico	
Figura 1 <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> A, B); Fruto cortado C); Frutos em 5 fase do crescimento D); Semente de <i>A. erectifolius</i> E).	17
Figura 2 <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> (A, B); Semente de <i>A. bracteatus</i> C); Inflorescência D); Frutos em 5 fase do crescimento E).	19
Figura 3 Mapa Área de Estudo: Municípios de Rio Preto da Eva e Itacoatiara	26
Figura 4 Organograma do Experimento I – Assepsia e Germinação das sementes de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	27
Figura 5 Organograma do Experimento II – Biometria das plântulas de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	29
Figura 6 Organograma do Experimento III – Regeneração das plântulas de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> sob condições de luminosidades	30
Figura 7 Organograma do Experimento IV – Calogênese de Explantes Foliar de plântulas de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	31
 Capítulo 1 – Aspectos da germinação in vitro de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> sob temperatura e espectros de luz	
Figura 1 Mapa da Área de Estudo - municípios de Rio Preto da Eva e Itacoatiara	41
Figura 2 Fluxograma Assepsia e Germinação de Sementes In Vitro de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	42
Figura 3 A) <i>Ananas comosus bracteatus</i> nativo; B) AB Cultivado EMBRAPA; C) coroa do fruto; D) Inflorescência; E); Polpa; F) Sementes	45
Figura 4 A) <i>Ananas comosus erectifolius</i> nativo; B) cultivado na EMBAPA; C) cultivado INPA; D) Polpa; E) Sementes	46
Figura 5 A) Comparativo Curva de Crescimento da Germinação de <i>Ananas comosus erectifolius</i> Led Branca e Led Color B) Comparativo Curva de Crescimento da Germinação de <i>Ananas comosus bracteatus</i> Led Branca e Led Color	47
Figura 6 a) Sementes germinadas de AE; b) Sementes germinadas de AB; C) Comparativo Curva de Crescimento da Germinação de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> em Led Branca e Led Color; D) Comparativo Curva de Crescimento da Germinação de <i>Ananas comosus erectifolius</i> e <i>bracteatus</i> em Led Branca	48

Capítulo 2 – Cultivo *In Vitro* de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*: Influência da Iluminação no Desenvolvimento da Semente à Plântula

Figura 1	Avaliação Biométrica das plântulas de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	70
Figura 2	Curva de Desenvolvimento Foliar por Plântulas <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> luz Led Color (Azul-Vermelho).	72
Figura 3	Curva de Crescimento explantes de <i>Ananas comosus erectifolius</i> em Led Color da germinação até 127 dias de cultivo	60
Figura 4	Curva de Crescimento explantes de <i>Ananas comosus bracteatus</i> em Led Color da germinação até 127 dias de cultivo	73
Figura 5	Curva de Desenvolvimento Foliar por Plântulas <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> luz Led Branco	75
Figura 6	Comprimento médio das folhas por plântulas ao longo do tempo sob luz LED Branco de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	79
Figura 7	Comprimento médio das folhas por plântulas ao longo do tempo sob luz LED Color de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	81
Figura 8	Biometria Plântulas <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius in vitro</i> luz LED Branco e luz LED Color (Azul-Vermelho) para Altura Planta	85
Figura 9	Biometria Plântulas <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius in vitro</i> luz LED Branca e LED Color (Azul-Vermelho) para Largura Folha	85
Figura 10	Biometria Plântulas <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus in vitro</i> LED Branca e LED Color (Azul-Vermelho) para Altura Planta	86
Figura 11	Biometria Plântulas <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus in vitro</i> LED Branca e LED Color (Azul-Vermelho) para Largura Folha	86
Figura 12	Curva de Desenvolvimento Radicular das Plântulas <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus in vitro</i> luz LED Branco e luz LED Color ((Azul-Vermelho) para número de Raízes	88
Figura 13	Curva de Desenvolvimento Radicular das Plântulas <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus in vitro</i> luz LED Branco e luz LED Color ((Azul-Vermelho) para comprimento de Raíz	90

Capítulo 3 – Regeneração de plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* em MS e B5 sob diferentes iluminações

Figura 1	Organograma do Experimento Regeneração de plântulas de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	114
-----------------	--	------------

Figura 2	Regeneração de <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> B5+BAP sob diferentes condições de luminosidades (LED Branca, LED Color e Ausência de Luz ou Escuro)	116
Figura 3	Regeneração de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> B5+BAP sob diferentes condições de luminosidades (LED Branca, LED Color e Ausência de Luz ou Escuro)	117
Figura 4	Regeneração de <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> MS+BAP sob diferentes condições de luminosidades (LED Branca, LED Color e Ausência de Luz ou Escuro)	120
Figura 5	Regeneração de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> MS+BAP sob diferentes condições de luminosidades (LED Branca, LED Color e Ausência de Luz ou Escuro)	121
Figura 6	Etapas da morfogênese da organogênese indireta de <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> - a, b, c) Estágio inicial de conversão de células em planta e calos com células diferenciadas; d, e) Calos diferenciados e Plantas jovens a serem transferidas para o meio de cultivo; f) Plantas regeneradas e estágios iniciais de desenvolvimento; g) Mudas da variedade <i>bracteatus</i> obtidas no meio de cultivo	122
Figura 7	A) Regressão Linear – Concentração vs. Número de Folhas em MS LED Branca e B) LED Color para <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> ; C) Regressão Linear – Concentração vs. Número de Folhas em B5 LED Branca e D) LED Color para <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i>	123
Figura 8	Gráfico de dispersão dos Meios MS e B5 para as variáveis Altura Planta, Número de folhas, Largura da Folha, Comprimento da Folha e Número de raízes em relação a variável independente Crescimento	125
Figura 9	Gráfico Efeito das Concentrações de BAP crescimento radicular em <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> sob condições de luminosidades	127
Capítulo 4 – Estratégias para Indução de Calos Friáveis em <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>: Desafios e Perspectivas Biotecnológicas		
Figura 1	Esquema do Experimento Calogênese das variedades <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> suplementados com elicitores sob condições de luminosidade diferentes.	141
Figura 2	Efeitos indesejáveis no processo de Calogênese de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> em Meio MS suplementado com 2,4D + BAP sob condições de luminosidade	144
Figura 3	Efeitos indesejáveis no processo de Calogênese de <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> em Meio MS suplementado com 2,4D + BAP sob condições de luminosidade	145

Figura 4	Efeitos indesejáveis no processo de Calogênese de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> em Meio B5 suplementado com 2,4D + BAP sob condições de luminosidade	146
Figura 5	Efeitos indesejáveis no processo de Calogênese de <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> em Meio B5 suplementado com 2,4D + BAP sob condições de luminosidade	148
Figura 6	Diferenças morfológicas quanto à consistência e coloração dos calos formados em explantes de <i>lisianthus</i> a partir de diferentes concentrações de 2,4-D. A) calos friáveis e marrons; B) calos friáveis e amarelo-esverdeados; C) calos friáveis e branco leitoso; D) calos friáveis e amarelo-creme (ARAUJO, 2015). Formação de calos friáveis segmento apical de plântulas de paricá (S. Parahyba). E) Formação de calos friáveis aos 15 dias de cultivo, com coloração bege claro, a partir de segmento apical de plântulas de paricá (S. parahyba) germinadas in vitro; F) Rizogênese a partir de calos de segmentos intercotiledonares de plântulas de paricá (S. parahyba) aos 30 dias de cultivo (REIS, LAMEIRA E CORDEIRO, 2007).	153

Micropropagação de *Ananas erectifolius* via organogênese indireta a partir do segmento de base foliar obtido de folhas jovens de *Ananas comosus erectifolius*. **G)** Explante excisado da base foliar; **H)** calo induzido no tratamento contendo TDZ; **I)** imitação da formação da parte aérea (ver seta) do calo, tomada com microscópio eletrônico de varredura; **J e L)** crescimento adicional da parte aérea no mesmo meio; **M)** brotos regenerados em meio MS de 1/4 de força (MOREIRA, 2016)

LISTA DE TABELAS

	Pag.
Materiais e Método	
	33
Tabela 1 – Consolidação dos tratamentos e condições experimentais da cultura in vitro da espécie <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	
Capítulo 1 – Aspectos da germinação in vitro de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> sob temperatura e espectros de luz	
Tabela 1	51
<i>Comparação das médias de porcentagem, efeito da temperatura na Média de Tempo de Cultivo (MTC) e Média de Germinação de sementes entre condições de luminosidade</i>	
Capítulo 2 – Cultivo In Vitro de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>: Influência da Iluminação no Desenvolvimento da Semente à Plântula	
Tabela 1	76
<i>Comparação dos Padrões de Crescimento foliar entre <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> sob condições de luminosidades para número de folhas</i>	
Tabela 2	93
<i>Comparação dos Padrões de Crescimento foliar entre <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> sob condições de luminosidades para comprimento de folha</i>	
Tabela 3	93
<i>t-Test Amostras independentes: Biometria de plântulas de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> in vitro em Led Branca e Led Color</i>	
Capítulo 3 - Regeneração de plântulas de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> em Meio MS e B5 sob diferentes iluminações.	
Tabela 1	118
<i>Resumo Consolidado das variáveis de Indução de Calos e Brotos (%) nas diferentes Condições Experimentais sobre <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> em Meio MS + BAP</i>	
Tabela 2	119
<i>Resumo Consolidado das variáveis de Indução de Calos e Brotos (%) nas diferentes Condições Experimentais sobre <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> em Meio B5 + BAP</i>	

SUMÁRIO

1	Introdução	13
2	Referencial Teórico	16
2.1	Caracterização do <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	16
2.1.1	Importância taxonômica e ecológica	16
2.1.2	Distribuição geográfica e conservação	17
2.1.3	Potencial bioativo e Aplicação econômica	19
2.2	Cultura de Tecido in vitro: Germinação, Regeneração e Calogênese	20
2.2.1	Histórico e fundamentos da cultura de tecido para a conservação	20
2.2.2	Germinação <i>in vitro</i>	21
2.2.3	Regeneração e micropropagação a partir de segmento nodais	22
2.2.4	Calogênese e Produção de compostos bioativos	23
2.3	Perspectivas de conservação e aplicações biotecnológicas	23
2.3.1	Conservação de plantas nativas via cultura de tecido	23
2.3.2	Produção sustentável de compostos bioativos	23
2.3.3	Conexão coma indústria farmacêutica e cosmética	24
3.0	MATERIAL E MÉTODO	25
3.1	Materiais e Reagentes utilizados	25
3.2	Area de Estudo	25
3.3	Desenho Experimental	26
3.3.1	Experimento I- Germinação de explantes foliares de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	26
3.3.2	Experimento II – Biometria das plântulas de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	29
3.3.3	Experimento III: Regeneração por explante de segmento nodal de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	29
3.3.4	Experimento IV: Calogênese por explante foliar de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	30
3.4	Preparo dos Meios de Cultura	31
3.5	Procedimento de inoculação e incubação	32

3.6 Análise e Avaliação dos Resultados	34
3.6.1 Critérios de Avaliação	34
3.6.2 Avaliação de Regeneração	
3.6.3 Análise quantitativa e Formulas aplicadas	35
3.6.4 Interconexão Metodológicas	
3.6.5 Análises Estatísticas	
3.6.6 Metodologia para Avaliação Qualitativa dos Explantes Foliares no Experimento IV	36
4.0 Referencial Teórico	39
Capítulo 1- Aspectos da germinação in vitro de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> sob temperatura e espectros de luz	44
Capítulo 2- Cultivo In Vitro de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> : Influência da Iluminação no Desenvolvimento da Semente à Plântula	66
Capítulo 3 – Regeneração de plântulas de <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>braqueatus</i> em MS e B5 sob diferentes iluminações	105
Capítulo 4 – Estratégias para Indução de Calos Friáveis em <i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i> e <i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i> : Desafios e Perspectivas Biotecnológicas	137

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Ananas*, pertencente à família Bromeliaceae, compreende espécies de notável importância ecológica, econômica e biotecnológica, destacando-se especialmente as variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus*. Essas variedades, nativas do Brasil, são valorizadas pelo uso ornamental e pelo potencial de produção de compostos bioativos, como a bromelina, que possui propriedades terapêuticas amplamente reconhecidas. (CAMPELO *et al.*, 2021).

A relevância dessas espécies vai além de suas características econômicas, englobando também seu papel em pesquisas voltadas para a conservação e manejo sustentável de plantas nativas, muitas das quais possuem propriedades medicinais e são tradicionalmente utilizadas para fins terapêuticos e culturais. Dada essa importância, estudos sobre o cultivo e propagação dessas variedades têm atraído crescente interesse científico (DIAS, 2021).

Nesse contexto, a cultura de tecidos emerge como uma técnica fundamental para a propagação e conservação de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Na qual, a germinação de sementes representa o primeiro estágio nesse processo *in vitro*, seguida pela regeneração a partir de segmentos nodais e pela indução de calogênese em explantes foliares (SILVA, 2023).

Esses processos biotecnológicos permitem o desenvolvimento completo de plantas a partir de pequenas porções vegetativas, possibilitando a propagação em larga escala dessas variedades e o estudo detalhado de suas características biológicas e fisiológicas. Ao promover o crescimento de espécies com interesse biotecnológico, a cultura de tecidos também assegura a preservação de plantas nativas e a sustentabilidade no uso de recursos naturais (ALVES, 2022).

Assim, a utilização de técnicas de cultura *in vitro* desponta como uma estratégia eficiente e sustentável para a conservação e exploração de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Além de favorecer a preservação da biodiversidade, esses métodos possibilitam a produção de compostos bioativos de alto valor agregado, como a bromelina, amplamente utilizada nas indústrias farmacêutica e cosmética (PAZ, 2023).

Ao alinhar a biotecnologia com os objetivos de conservação ambiental e econômica, o uso de cultura de tecidos não só fortalece a exploração sustentável desses recursos, mas também promove o avanço científico e a valorização de espécies de relevância para a sociobiodiversidade brasileira.

Por isso, o desmatamento, a exploração predatória e as mudanças climáticas representam sérias ameaças à sobrevivência de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Essas variedades possuem distribuição geográfica restrita, sendo encontradas em regiões específicas do Brasil, o que as torna particularmente vulneráveis à degradação ambiental e à perda de habitat (Dias *et al.*, 2020). Além disso, a alta demanda por suas propriedades ornamentais e bioativas intensifica a pressão sobre suas populações naturais, colocando em risco não apenas sua preservação, mas também o potencial de uso sustentável. A manutenção dessas variedades é, portanto, essencial para a preservação da biodiversidade e para a continuidade de seu aproveitamento sustentável em atividades econômicas e biotecnológicas (LIMA, 2022).

Nesse contexto, a cultura *in vitro* surge como estratégia promissora para viabilizar a propagação dessas plantas em ambientes controlados, reduzindo a necessidade de coleta de indivíduos diretamente da natureza. Protocolos específicos que considerem fatores como temperatura, intensidade luminosa e nutrientes são fundamentais para otimizar a germinação e regeneração de *Ananas comosus*, assegurando que essas variedades possam ser reproduzidas em larga escala. A compreensão detalhada dos parâmetros ideais para o cultivo *in vitro* permitirá a criação de metodologias aplicáveis tanto para a pesquisa quanto para a produção comercial, proporcionando um recurso sustentável para a conservação da espécie (JUNGHANS, 2021).

Esta pesquisa busca responder à questão central: “Como condições controladas *in vitro* podem influenciar a germinação, regeneração e calogênese de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, favorecendo sua conservação e aplicação biotecnológica?” A resolução dessa problemática guiará o desenvolvimento de protocolos inovadores que contribuam para a conservação dessas plantas e seu uso racional. Esse estudo, portanto, visa preencher lacunas no conhecimento atual e estabelecer uma base sólida para práticas de manejo sustentável, alinhando o potencial biotecnológico com a preservação ambiental (FERREIRA, 2023).

Visto que, a espécie *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* desempenham papel fundamental na conservação da biodiversidade regional, sendo endêmicas do Brasil e representando recursos genéticos valiosos. Estudos sobre essas espécies possibilitam o desenvolvimento de práticas sustentáveis de preservação, com ênfase na manutenção de características genéticas e morfológicas de interesse científico (Forzza *et al.*, 2020). A pesquisa visa ampliar o conhecimento sobre essas variedades e oferecer subsídios para

sua conservação *ex situ*, contribuindo, assim, para a manutenção da diversidade genética essencial para o equilíbrio ecológico (SOUZA *et al.*, 2019).

Além do valor ecológico, essas variedades possuem um potencial biotecnológico robusto, especialmente pela produção de bromelina, uma enzima amplamente reconhecida por suas aplicações anti-inflamatórias e digestivas. Outros compostos bioativos extraídos dessas espécies, como fosfatases, celulasas, glucosidases e compostos fenólicos, também são de interesse nas indústrias farmacêutica e cosmética (PEREIRA & ELIAS, 2010). Esses compostos possuem atividades antioxidantes, antimicrobianas e amaciantes, o que amplia as possibilidades de aproveitamento econômico e agrega valor à conservação dessas espécies. A produção *in vitro* permite o cultivo sustentável desses compostos, assegurando a preservação e promovendo uma exploração racional dos recursos QUEIROGA *et al.*, 2023).

Esta pesquisa propõe protocolos específicos de *cultura in vitro* para *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* com o intuito de favorecer tanto a conservação quanto o uso biotecnológico dessas espécies. Ao estabelecer métodos de propagação adequados, o estudo promove o avanço da ciência e viabiliza o desenvolvimento de processos aplicáveis em escala industrial. Assim, espera-se que os resultados obtidos inspirem novas abordagens para a conservação e uso sustentável de outras plantas com potencial biotecnológico (SILVA *et al.*, 2020).

Diante disso, o objetivo geral desta pesquisa é investigar as condições *in vitro* ideais para a germinação, regeneração e calogênese de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus*, visando contribuir para sua conservação e aplicação biotecnológica. Esse objetivo centraliza-se na análise de fatores que possam otimizar esses processos em ambiente controlado, proporcionando um avanço significativo no desenvolvimento de protocolos que garantam tanto a preservação quanto o uso sustentável dessas espécies nativas.

Entre os objetivos específicos, pretende-se (1) identificar os parâmetros ideais de temperatura e luminosidade que favoreçam a germinação das sementes dessas variedades; (2) estabelecer protocolos de regeneração a partir de segmentos nodais, promovendo a viabilidade da propagação vegetativa; e (3) avaliar a calogênese em explantes foliares, investigando o uso de reguladores de crescimento que possam potencializar a formação de calos e possibilitar a produção de biomassa útil para extração de compostos bioativos, como a bromelina.

Esses objetivos alinham-se à proposta de conservação e exploração sustentável das variedades de *Ananas comosus*, integrando a biotecnologia com os esforços de preservação. A

formulação de protocolos específicos para essas espécies representa um avanço na área, oferecendo subsídios para futuras pesquisas acadêmicas e aplicações industriais. Assim, espera-se que os resultados contribuam para práticas inovadoras que fortaleçam a interface entre conservação ambiental e desenvolvimento biotecnológico (SILVA *et al.*, 2020).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2. 1. Caracterização de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus*

2.1.1 Importância taxonômica e ecológica:

Ananas comosus var. *erectifolius* (Smith L.B)

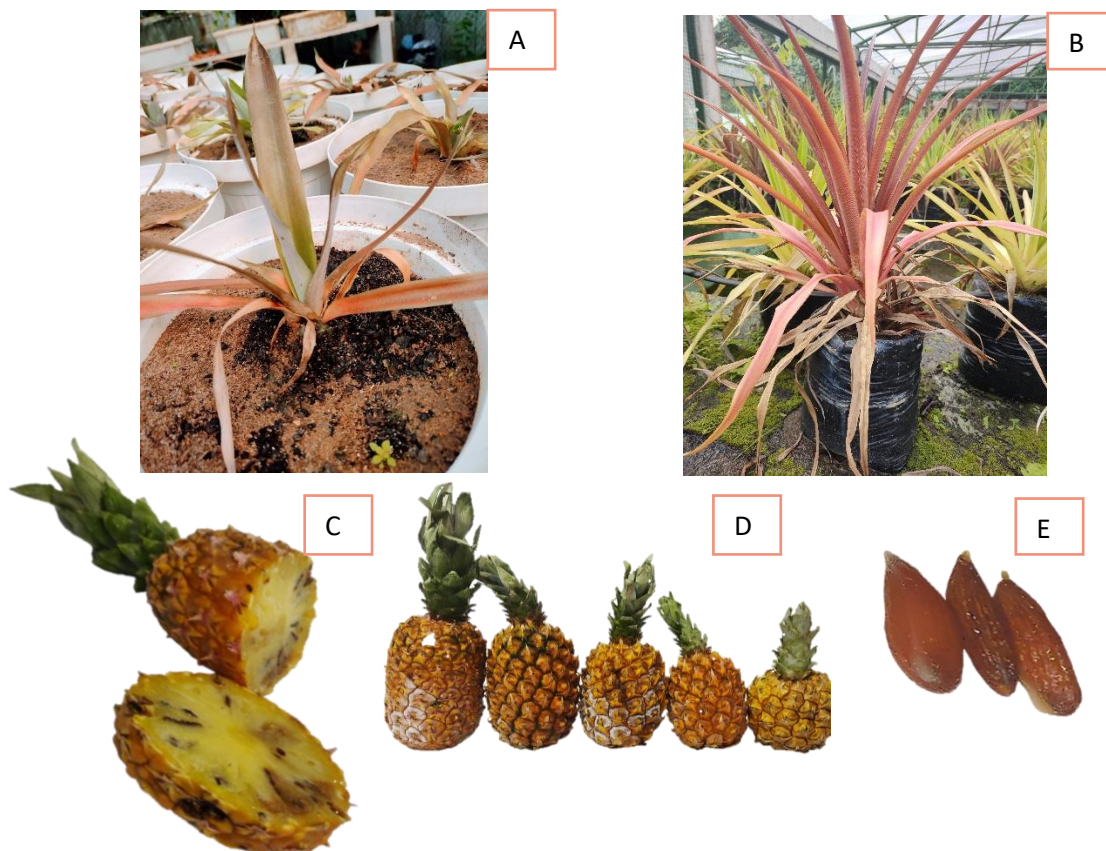


Figura 1 – *Ananas comosus erectifolius* A, B); Fruto cortado C); Frutos em 5 fase do crescimento (Barra de escala 3cm a 15cm) D); Semente de *Ananas erectifolius* E). Barra de escala 2.5mm

Fonte: AUTOR, 2024

Ananas comosus, pertencente à família Bromeliaceae, representa uma diversidade de espécies tropicais com relevância ecológica, econômica e ornamental. No Brasil, destaca-se a variedade *erectifolius*, conhecida popularmente como curauá, e a variedade *bracteatus*, ou abacaxi-vermelho, ambas adaptadas ao clima tropical e amplamente utilizadas na ornamentação e na produção de fibras. A Bromeliaceae possui mais de 3.000 espécies, distribuídas especialmente nas Américas, e é reconhecida pela capacidade de formar rosetas que acumulam água, criando micro-habitats e colaborando para a biodiversidade. Essa diversidade torna as bromélias elementos essenciais para o equilíbrio ecológico, oferecendo refúgio e recursos para uma variedade de organismos (ALVES *et al.*, 2019; KOWALSKI *et al.*, 2023).

As adaptações morfológicas e fisiológicas das bromélias refletem uma notável plasticidade ecológica, permitindo sua colonização em diferentes nichos, desde solos ricos até ambientes epifíticos e rupestres. Características como os tricomas peltados, especializados na absorção de água e nutrientes, e a capacidade de realizar fotossíntese CAM em condições de baixa umidade são essenciais para a sobrevivência em habitats com recursos limitados. A variedade *bracteatus*, por exemplo, apresenta folhas com coloração quimérica, adaptadas a variações de intensidade luminosa, o que acentua seu valor ornamental e sua aclimação a diversos microclimas tropicais. Essas adaptações reforçam a importância da família Bromeliaceae como exemplo de diversificação adaptativa nos ecossistemas brasileiros (YANG *et al.*, 2022).

Além do valor ornamental e ecológico, *A. comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus* têm importância econômica devido ao potencial de exploração de suas fibras e compostos bioativos. Estudos fitoquímicos identificaram substâncias como bromelina e antocianinas, além de compostos antioxidantes, anti-inflamatórios e de potencial terapêutico, amplamente aplicáveis nas indústrias farmacêutica e cosmética. A pesquisa e conservação dessas espécies nativas são fundamentais para a manutenção de recursos genéticos únicos, promovendo a sustentabilidade e a valorização da biodiversidade brasileira. Dessa forma, o estudo dessas variedades não só contribui para a biotecnologia, mas também para a conservação de ecossistemas ameaçados (KHALED *et al.*, 2024).

2.1.2 Distribuição geográfica e conservação:

As variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus*, nativas de regiões específicas do Brasil, possuem uma distribuição geográfica restrita, o que as torna vulneráveis à exploração predatória e ao desmatamento. Essas atividades afetam diretamente a preservação

dessas espécies, ameaçando sua continuidade nos ecossistemas naturais. A distribuição limitada e a especificidade de habitat, comuns na família Bromeliaceae, reforçam a necessidade de medidas que preservem esses recursos genéticos, essenciais para a biodiversidade e sustentabilidade dos ecossistemas locais (PORTELA 2023).

A concentração geográfica dessas variedades aumenta o impacto das pressões ambientais, como a expansão agrícola e a urbanização, que têm acelerado a perda de habitat nativo. Estudos recentes indicam que a destruição de áreas florestais na Mata Atlântica e na Amazônia tem reduzido as populações de *A. comosus*, comprometendo a sobrevivência dessas espécies endêmicas e de valor ecológico. O conhecimento sobre a localização e o estado de conservação desses habitats é fundamental para o planejamento de ações eficazes de preservação (CASTRO *et al.*, 2022).

Ananas comosus var. *bracteatus* (Lindley)



Figura 2 – *Ananas comosus* var. *bracteatus* (A, B); Semente de *Ananas comosus* var. *bracteatus* (C); Inflorescência (D); Frutos em 5 fases do crescimento (Barra de escala 3cm a 15cm) (E). Barra de escala 2.5mm (sementes)

Fonte: AUTOR, 2024

Portanto, estratégias de conservação *ex situ* e *in situ* são essenciais para garantir a preservação de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Bancos de germoplasma, como os da Embrapa, têm sido fundamentais na conservação dessas espécies, permitindo a preservação de sua variabilidade genética para uso futuro e garantindo uma fonte estável de material genético para programas de restauração ecológica e pesquisa. A conservação dessas espécies não só protege a biodiversidade local, mas também sustenta a pesquisa biotecnológica que explora o potencial econômico dessas plantas, favorecendo o desenvolvimento sustentável e a proteção ambiental (DIAS *et al.*, 2020).

2.1.3 Potencial bioativo e aplicações econômicas:

As variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* possuem grande potencial bioativo, particularmente devido à presença de enzimas como a bromelina, uma protease com aplicações amplas na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia. Essa enzima é bem documentada por suas propriedades anti-inflamatórias, anticoagulantes e imunomoduladoras, que contribuem para seu uso no tratamento de inflamações e como coadjuvante em terapias para doenças cardiovasculares e câncer (HIKISZ & BERNASINSKA-SLOMCZEWSKA, 2021). Além disso, estudos indicam que o uso de bromelina e outros compostos bioativos derivados do abacaxi pode ser um recurso valioso para o desenvolvimento de produtos funcionais, alinhando-se com a demanda crescente por terapias naturais na medicina moderna (MALA *et al.*, 2023)

Além da bromelina, essas variedades também produzem compostos antioxidantes e fenólicos, incluindo flavonoides e ácidos hidroxycinâmicos, que desempenham um papel essencial na proteção contra doenças oxidativas. Estudos apontam que esses metabólitos secundários não só promovem a saúde, mas também oferecem um diferencial competitivo para produtos destinados à indústria de alimentos funcionais e cosméticos, dado seu efeito preservador e sua capacidade de retardar o envelhecimento cutâneo (KHALED *et al.*, 2024). A exploração desses compostos por meio da biotecnologia, particularmente com o cultivo *in vitro*, permite uma produção sustentável, contribuindo para o desenvolvimento de bioprodutos com alta demanda de mercado e menor impacto ambiental (SOUZA *et al.*, 2018).

A viabilidade econômica da produção em larga escala de enzimas como a bromelina, junto com antioxidantes derivados de *Ananas comosus*, torna-se evidente com a crescente demanda por soluções naturais. A utilização de resíduos agrícolas para a extração de compostos bioativos adiciona valor econômico ao cultivo de abacaxi e proporciona uma abordagem

sustentável para a produção industrial. Essas práticas não só valorizam economicamente as variedades, mas também auxiliam na conservação de recursos naturais, demonstrando a relevância da biotecnologia como ferramenta para uma exploração racional e sustentável (PHULL *et al.*, 2024).

2.2 Cultura de Tecidos In Vitro: Germinação, Regeneração e Calogênese

2.2.1 Histórico e fundamentos da cultura de tecidos para conservação:

A cultura de tecidos vegetais, desenvolvida como uma técnica essencial de conservação *ex situ*, tem desempenhado papel fundamental na preservação de espécies vegetais ameaçadas. Desde seu desenvolvimento inicial, essa técnica foi aprimorada para permitir a multiplicação massiva de plantas em ambiente controlado, reduzindo a pressão sobre populações naturais e contribuindo para a sustentabilidade. Essa abordagem não apenas minimiza os impactos ambientais da coleta in natura, mas também permite o armazenamento genético de espécies com valor ecológico e econômico significativo (DIAS 2021; AHMAD *et al.*, 2024).

A técnica de cultura de tecidos se destaca por sua flexibilidade, permitindo a conservação de diversas espécies através de métodos de micropropagação, criopreservação e manutenção em crescimento lento. Em especial, espécies ornamentais e de importância medicinal, como as bromélias e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, têm se beneficiado desses métodos, que auxiliam na preservação de características genéticas específicas em condições controladas. Esse procedimento é particularmente relevante para plantas endêmicas, que enfrentam riscos devido à degradação ambiental e exploração inadequada de seus habitats naturais (CASTRO *et al.*, 2022).

Atualmente, a cultura de tecidos se consolida como ferramenta indispensável para conservação e pesquisa, propiciando a reprodução de espécies em risco de extinção sem necessidade de retirada de indivíduos do meio ambiente. Estudos recentes ressaltam o potencial de adaptação da cultura de tecidos para promover a viabilidade econômica da conservação de espécies como *Ananas comosus*, possibilitando a produção de compostos bioativos de interesse farmacêutico e industrial. Essa abordagem não só protege a biodiversidade, mas também contribui para a inovação em biotecnologia (HUANG *et al* 2023; FENG *et al.*, 2022)

2.2.2 Germinação *in vitro*

A germinação *in vitro* de sementes de bromélias, como *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, depende de fatores ambientais específicos, como luz, temperatura e substrato, que influenciam diretamente a taxa e a uniformidade do processo germinativo. Estudos indicam que temperaturas constantes e regimes controlados de luz podem melhorar significativamente a germinabilidade, ajustando condições ideais para cada espécie. No caso de sementes de abacaxizeiro, temperaturas em torno de 25°C têm mostrado resultados promissores, promovendo a germinação rápida e homogênea (MUNARETO *et al.*, 2021; JUNGHANS *et al.*, 2021).

A importância de determinar a temperatura ideal e a exposição à luz é evidenciada pela variabilidade de resposta entre diferentes espécies de bromélias. Em condições de laboratório, a temperatura influencia a quebra de dormência e o desenvolvimento inicial da plântula, fatores cruciais para o sucesso na produção *in vitro*. Além disso, técnicas como pré-tratamentos com reguladores de crescimento podem auxiliar na otimização dos resultados, oferecendo suporte para o melhoramento genético e a conservação de espécies de valor econômico e ecológico (ZOMER, 2021; COSTA *et al.*, 2023).

A germinação *in vitro* de espécies ameaçadas de extinção, como as variedades de *Ananas comosus*, não apenas facilita a conservação *ex situ*, mas também proporciona uma plataforma para pesquisas avançadas sobre fisiologia e genética. Tais estudos contribuem para o desenvolvimento de estratégias de manejo e preservação de recursos genéticos regionais, auxiliando na manutenção da biodiversidade em longo prazo (SANTOS FILHO *et al.*, 2020).

2.3 Regeneração e micropropagação a partir de segmentos nodais:

A regeneração *in vitro* tem sido amplamente utilizada como uma abordagem eficaz para a multiplicação vegetativa de plantas, incluindo espécies de bromélias, como o abacaxi (*Ananas comosus*) e suas variedades nativas brasileiras. Nessa técnica, segmentos nodais, que possuem meristemas, são cultivados em meio de cultura suplementado com reguladores de crescimento para induzir a formação de brotos. Estudos com diferentes espécies de bromélias revelam que a adição de benzilaminopurina (BAP) e ácido indolbutírico (IBA) aumenta a proliferação de brotos e melhora a taxa de sobrevivência dos explantes (KOWALSKI *et al.*, 2023; SILVA-MORAES *et al.*, 2024).

O uso de reguladores de crescimento, como a BAP e o ácido naftalenoacético (NAA), tem se mostrado promissor para maximizar a regeneração de brotos em explantes nodais de

Ananas comosus. Contudo, problemas como a oxidação dos tecidos e a baixa sobrevivência de plântulas são desafios recorrentes durante o cultivo. Diversos estudos enfatizam a necessidade de otimizar as concentrações de reguladores de crescimento e aditivos antioxidantes para mitigar esses problemas, permitindo um maior sucesso na fase de aclimação das mudas regeneradas (HARADZI *et al.*, 2021; FAROOQ *et al.*, 2021)

Recentemente, sistemas de imersão temporária (TIS) têm sido aplicados para aprimorar o crescimento e a produção de biomassa de brotos, além de facilitar o manejo de explantes em escala comercial. Esses sistemas proporcionam melhor arejamento e controle de nutrientes, o que contribui para o desenvolvimento vigoroso de brotos e para a conservação de compostos bioativos nas plantas regeneradas. Tais avanços na micropropagação de *Ananas comosus* e outras bromélias podem apoiar a conservação *ex situ* e a produção sustentável de plantas de interesse biotecnológico (MIZABE *et al.*, 2022).

2.2.4 Calogênese e produção de compostos bioativos:

A calogênese em bromélias, especialmente em *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, é um processo pelo qual os explantes foliares formam calos, estruturas de células indiferenciadas que podem ser uma fonte valiosa de enzimas e compostos bioativos. Este processo é influenciado por fatores como o tipo de explante e as concentrações de reguladores de crescimento, como auxinas e citocininas. Estudos recentes em plantas medicinais e hortícolas mostram que a combinação de 2,4-D com NAA, por exemplo, favorece a formação de calos em diferentes tipos de explantes (ZAVALA-ORTIZ *et al.*, 2024; SOROKIN & KOVALCHUK, 2025).

Os calos de *Ananas comosus* têm potencial para a produção de bromelina e outros compostos bioativos de interesse biotecnológico. A presença de fitormônios como a 6-Benzilaminopurina (BAP) em combinação com o ácido naftalenoacético (NAA) foi identificada como essencial para manter a proliferação celular e induzir a síntese de metabólitos em calos de outras espécies, o que sugere a possibilidade de otimização também em bromélias (METIN *et al.*, 2024; KADAM *et al.*, 2024).

A produção de compostos bioativos a partir de calos representa uma alternativa sustentável à extração direta de plantas nativas, reduzindo a pressão sobre as populações naturais. A utilização da calogênese para a produção de enzimas como a bromelina, amplamente usada nas indústrias farmacêutica e alimentícia, contribui para um uso mais racional dos

recursos biológicos e para o desenvolvimento econômico sustentável (SOROKIN & KOVALCHUK, 2025; SARABANDI *et al.*, 2024).

2.3 Perspectivas de Conservação e Aplicações Biotecnológicas

2.3.1 Conservação de plantas nativas via cultura de tecidos

A cultura de tecidos é amplamente reconhecida como uma ferramenta eficiente para a conservação de espécies ameaçadas, permitindo o cultivo de plantas fora de seus habitats naturais em condições controladas. Essa técnica tem sido particularmente eficaz em espécies com distribuição geográfica restrita ou ameaçadas por fatores ambientais e atividades humanas, como o desmatamento e a expansão agrícola. Para espécies de Bromeliaceae, como as variedades de *Ananas comosus*, o uso de cultura de tecidos oferece uma via *ex situ* sustentável para preservar sua diversidade genética e biológica, garantindo que plantas viáveis possam ser reintroduzidas na natureza se necessário (AHMAD *et al.*, 2024; DUARTE *et al.*, 2023).

Programas de conservação baseados em cultura de tecidos têm demonstrado resultados promissores em espécies de alto valor ecológico e econômico. A conservação *ex situ* permite a manutenção de bancos genéticos em condições seguras e controladas, possibilitando a recuperação de espécies sem impacto direto em populações naturais. Em programas de conservação de bromélias, a cultura de tecidos permite que pequenas amostras, como fragmentos de folhas ou meristemas, gerem novas plantas geneticamente fiéis, o que é essencial para a preservação das características originais dessas espécies ameaçadas (LAMEIRA & CORDEIRO, 2023; SILVA *et al.*, 2025)

Apesar das vantagens, a cultura de tecidos apresenta desafios, como a manutenção da variabilidade genética e a adaptação das plantas ao serem reintroduzidas nos ecossistemas naturais. A técnica exige cuidados específicos para evitar a perda de diversidade genética durante o processo de multiplicação clonal. Além disso, há a necessidade de estudos contínuos para aperfeiçoar métodos de conservação e garantir que as plantas reintroduzidas possam sobreviver e se integrar ao ecossistema sem intervenção humana constante (MONICA *et al.*, 2024).

2.3.2 Produção sustentável de compostos bioativos:

A produção sustentável de compostos bioativos a partir da cultura de tecidos de *Ananas comosus* é uma alternativa promissora para atender à crescente demanda das indústrias farmacêutica e cosmética. Essa técnica permite o cultivo de biomassa sob condições controladas, possibilitando a obtenção de compostos bioativos de maneira contínua e

ambientalmente responsável. Enzimas como a bromelina, extraídas de calos de abacaxi, possuem amplas aplicações devido às suas propriedades anti-inflamatórias e digestivas, sendo amplamente exploradas em suplementos e cosméticos (LAMEIRA & CORDEIRO, 2023).

A produção *in vitro* de compostos bioativos apresenta várias vantagens econômicas e ecológicas. Esse método possibilita o aumento da produção de biomassa e compostos específicos, reduzindo a necessidade de extração direta de plantas nativas, o que minimiza o impacto ambiental. Além disso, a cultura *in vitro* fornece um ambiente livre de patógenos e pragas, diminuindo custos e riscos em comparação ao cultivo em campo. Estudos indicam que o cultivo *in vitro* pode elevar a concentração de biomassa de forma eficiente, promovendo a sustentabilidade dos processos industriais (JUNGHANS *et al.*, 2021).

A técnica de cultura *in vitro* também é fundamental para a pesquisa de variabilidade genética e adaptação de espécies de valor econômico. Por meio do controle preciso de fatores como tipos e concentrações de hormônios, é possível otimizar a produção de biomassa e maximizar a eficiência de enzimas específicas, como a bromelina. A produção sustentável, nesse contexto, integra-se em uma estratégia ampla de conservação e uso econômico de espécies nativas ameaçadas, destacando a biotecnologia como uma ferramenta valiosa para preservação ambiental e desenvolvimento econômico (SHU, 2024).

2.3.3 Conexão com as indústrias farmacêutica e cosmética:

Para abordar as implicações comerciais da produção *in vitro* de compostos bioativos de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus*, destacamos a relevância da biotecnologia na criação de alternativas sustentáveis para a indústria farmacêutica e cosmética. A cultura de tecidos possibilita a produção controlada e escalável de compostos bioativos como a bromelina, com aplicações na produção de produtos farmacêuticos e cosméticos. Esta tecnologia permite às indústrias explorar os compostos sem impactar negativamente os ecossistemas naturais, oferecendo uma alternativa sustentável para a conservação de recursos naturais (FENG *et al.*, 2022; CASTRO 2022).

Estudos de caso em espécies medicinais demonstram o impacto positivo da biotecnologia na preservação de espécies nativas. Por exemplo, projetos envolvendo bromélias e outras plantas nativas têm sido desenvolvidos para promover a conservação *ex situ* e a produção em larga escala de compostos bioativos, contribuindo para a preservação da biodiversidade e atendendo à demanda das indústrias farmacêutica e cosmética (CASTRO 2022).

Assim, o desenvolvimento de tecnologias para cultura de tecidos de *Ananas comosus* e suas variedades abre caminho para a colaboração com indústrias que buscam soluções ambientalmente responsáveis e inovadoras. A pesquisa contribui, portanto, para a criação de uma base científica sólida que permite o uso comercial responsável de recursos naturais, favorecendo a sustentabilidade e a conservação da biodiversidade (ABDELFATTAH *et al.*, 2023).

3.0 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Materiais e Reagentes Utilizados

Os experimentos foram conduzidos no **Laboratório de Silvicultura e Tecnologia Digitais (LASTED–INPA)**, utilizando material vegetal de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Para garantir a eficiência e a precisão do cultivo *in vitro*, foram empregados reagentes de alta pureza e materiais específicos que asseguraram a esterilidade e as condições ideais de crescimento para os explantes.

Entre os reagentes utilizados, destacam-se o **hipoclorito de sódio**, essencial para o processo de desinfecção inicial, e o **álcool 70% (Vetec)**, utilizado para garantir a assepsia durante as etapas de manipulação. O **fungicida Cabrio® Top 1% (BASF)** foi aplicado para prevenir o desenvolvimento de agentes fúngicos. Além disso, o meio de cultura foi solidificado com **ágar-ágar (7 g L⁻¹, Himedia)**, permitindo o suporte físico adequado para os explantes.

Os **reguladores de crescimento** incluíram a **6-Benzilaminopurina (BAP)** e o **Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)**, essenciais para estimular os processos de regeneração e calogênese. A combinação desses materiais e reagentes foi cuidadosamente selecionada para proporcionar as condições ideais para os experimentos de germinação, regeneração e calogênese das variedades estudadas.

3.2. Área de Estudo

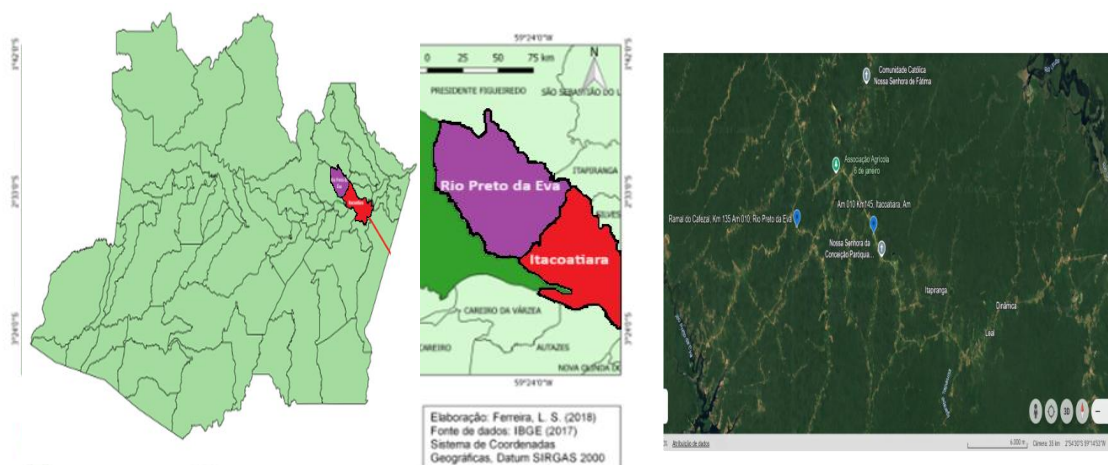
A **área de estudo** para a coleta dos frutos de *Ananas comosus* abrangeu regiões específicas da **Região Metropolitana de Manaus**, no estado do Amazonas. Os frutos da *Ananas comosus* var. *erectifolius* (conhecida como *curauá roxo*) foram coletados no **Ramal do Cafezal**, localizado no **km 135 da rodovia AM-010**, no município de **Rio Preto da Eva** (coordenadas: 2°52'45"S, 59°23'00"W).

Já os frutos da *Ananas comosus* var. *bracteatus* (denominada *abacaxi-vermelho*) foram obtidos nas proximidades do **km 145 da rodovia AM-010**, no município de **Itacoatiara**

(coordenadas: 2°53'48"S, 59°20'53"W). Essas áreas foram selecionadas por representarem locais de ocorrência natural das respectivas variedades, garantindo a autenticidade do material genético e a representatividade das populações locais.

Essas áreas estão representadas no seguinte mapa:

Figura 03 – Mapa Área de Estudo: Municípios de Rio Preto da Eva e Itacoatiara



Fonte: IBGE, 2020, Google Earth, 2024

As plantas utilizadas neste estudo foram identificadas pelo Dr. Vandely Kinnup, especialista na área. As exsicatas correspondentes, devidamente preparadas e identificadas, foram registradas e incorporadas ao acervo do Herbário da Escola Agrotécnica Federal de Manaus (EAFM), pertencente ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), localizado na zona Leste da cidade de Manaus. Os registros foram efetuados sob os números 19267, 19268, 19269 e 19270.

3.3. Desenho Experimental

Os experimentos avaliaram diferentes aspectos do cultivo *in vitro*, como germinação (Experimento I), crescimento e biometria de plântulas (Experimento II), regeneração de explantes nodais (Experimento III) e calogênese de explantes foliares (Experimento IV).

3.3.1 Experimento I: Germinação de Sementes *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*

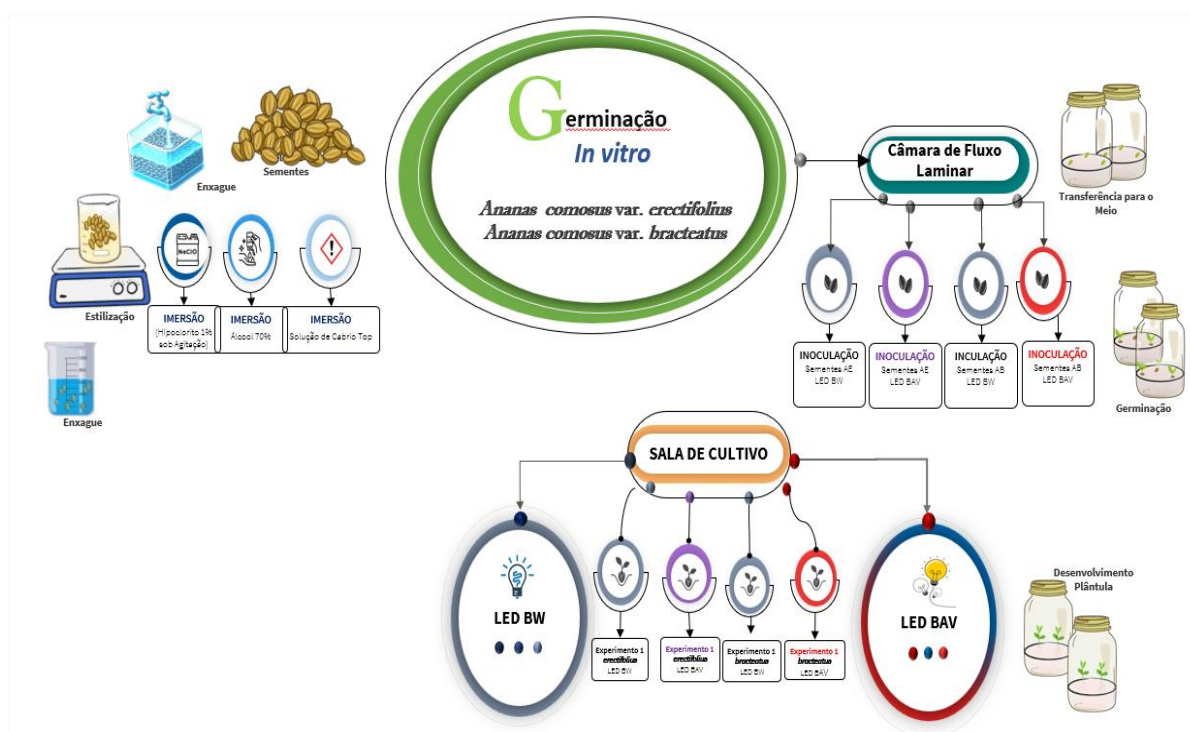
O Experimento I foi conduzido para avaliar a **germinação de sementes** de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e var. *bracteatus*. Foram utilizadas **160 sementes**, sendo **80 sementes de cada variedade**, distribuídas igualmente em dois grupos, de acordo com as condições de

luminosidade, sem adição de hormônios de crescimento. O objetivo foi investigar a influência da luz no processo de germinação das sementes dessas variedades.

As sementes foram submetidas a duas condições distintas de luminosidade: 1) **Luz LED Branca (530 nm)**: 80 sementes e 2) **Luz LED Azul-Vermelha (470 nm e 660 nm)**: 80 sementes.

A germinação foi conduzida sob **temperatura controlada de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$** , garantindo condições homogêneas e adequadas para o desenvolvimento inicial das sementes. Esse delineamento experimental possibilitou a análise comparativa entre as variedades e os diferentes regimes de luz, fornecendo informações detalhadas sobre as condições ideais para maximizar a germinação em *Ananas comosus*.

Figura 4: Organograma do Experimento I – Assepsia e Germinação das sementes de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

3.3.2 Experimento II: Biometria das Plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus* sob temperatura e condições de luminosidade.

O Experimento II teve como objetivo avaliar o impacto de diferentes espectros de luz LED no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Paralelamente, buscou-se quantificar o número total de explantes foliares disponíveis para aplicação no Experimento IV – Calogênese Foliar. Para

atender a esse objetivo, a análise do **desenvolvimento foliar** focou-se no **conjunto das folhas produzidas** e na **evolução individual** de cada folha ao longo do período experimental. Essa abordagem permitiu uma avaliação mais integrada do **potencial de produção de biomassa foliar**, diretamente relacionada à etapa subsequente do estudo.

3.3.2.1 Preparo do Meio de Cultura

O meio de cultura utilizado no Experimento II foi o **MS (Murashige e Skoog)**, previamente validado no Experimento I. Para assegurar condições adequadas ao desenvolvimento das plântulas, o meio foi suplementado com **30 g.L⁻¹ de sacarose** e **7 g.L⁻¹ de ágar**. O **pH do meio** foi ajustado para **4,8 ± 0,1** antes de ser submetido ao processo de autoclavagem, realizado a **121°C por 20 minutos**.

Nesta etapa, **não foram adicionados reguladores de crescimento**, pois o objetivo era proporcionar condições básicas e controladas para o desenvolvimento das plântulas. Algumas variáveis físico-químicas do solo amazônico foram consideradas como preditoras na formulação do meio, com ênfase no **pH**, que pode influenciar a riqueza fúngica nos solos da região. Estudos indicam que o pH do solo em fragmentos de floresta primária amazônica varia entre **3,5 e 5,0** (MONTEIRO *et al.*, 2021; ZÁRATE-SALAZAR *et al.*, 2024). Essa particularidade foi utilizada como referência para ajustar as condições de cultivo *in vitro*, otimizando o ambiente para o desenvolvimento inicial das plântulas.

3.3.2.2 Condições Experimentais

As plântulas foram cultivadas em frascos de vidro autoclaváveis, contendo **50 ml de meio de cultura** preparado conforme descrito. Durante o experimento, os frascos foram mantidos sob **temperatura controlada de 25°C ± 1°C** e submetidos a dois regimes distintos de iluminação: **Luz LED Branca** (530 nm) e **Luz LED Azul-Vermelha** (470 nm e 660 nm).

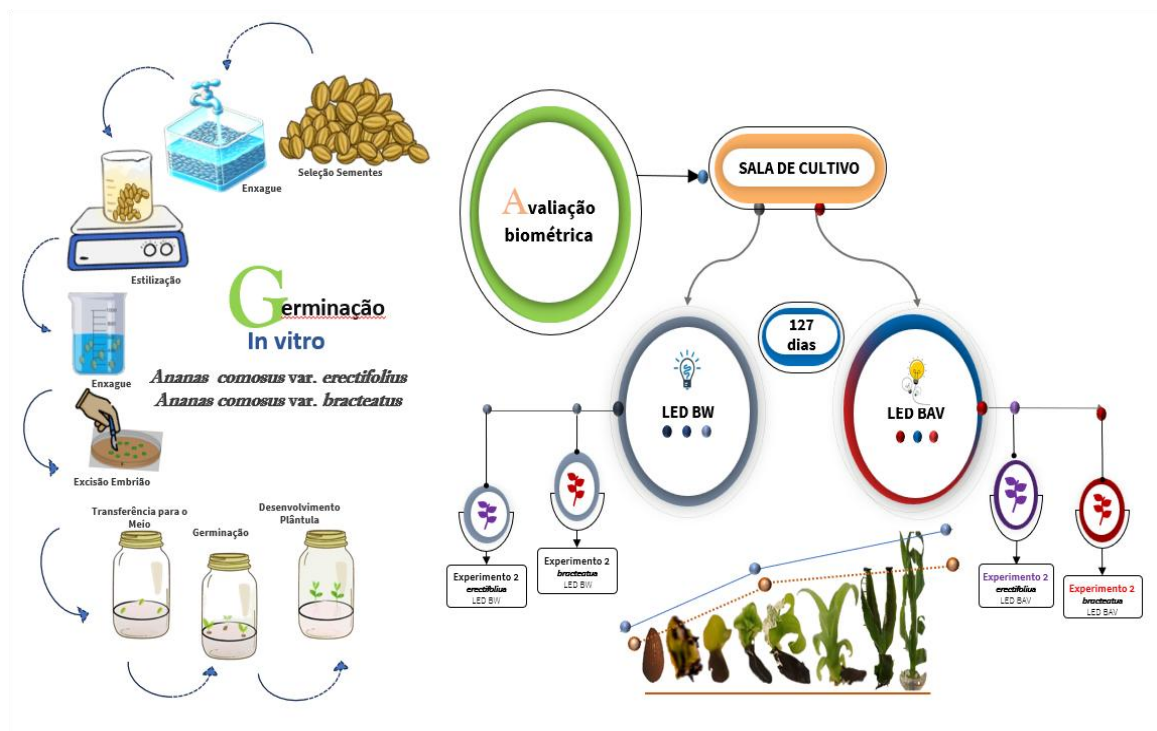
Cada tratamento contou com 80 plântulas por variedade, totalizando 160 plântulas

3.3.2.3 Medições Biométricas e Frequência

As medições biométricas foram realizadas a cada **10 dias**, ao longo de um período total de **127 dias**, para monitorar o desenvolvimento das plântulas. As variáveis avaliadas incluíram: **Altura da Planta (AP)**; **Número de Folhas (NF)**; **Largura da Folha (LF)**; **Comprimento da Folha (CF)**; **Comprimento da Raiz (CR)**; **Número de Raízes (NR)**; **Crescimento Total (CT)**: Obtido pela somatória de todas as variáveis mencionadas.

A escolha de uma frequência de medições a cada 10 dias foi definida para capturar diferenças no ritmo de crescimento entre as variedades estudadas. Este critério foi baseado em observações realizadas no Experimento I, onde a variedade *bracteatus* apresentou protrusão antes do período padrão de **30 dias**, sugerindo padrões de desenvolvimento distintos entre as variedades.

Figura 5. Organograma Experimento II – Biometria das plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*.



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

3.3.3 Experimento III: Regeneração por Explante de Segmento Nodal *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*.

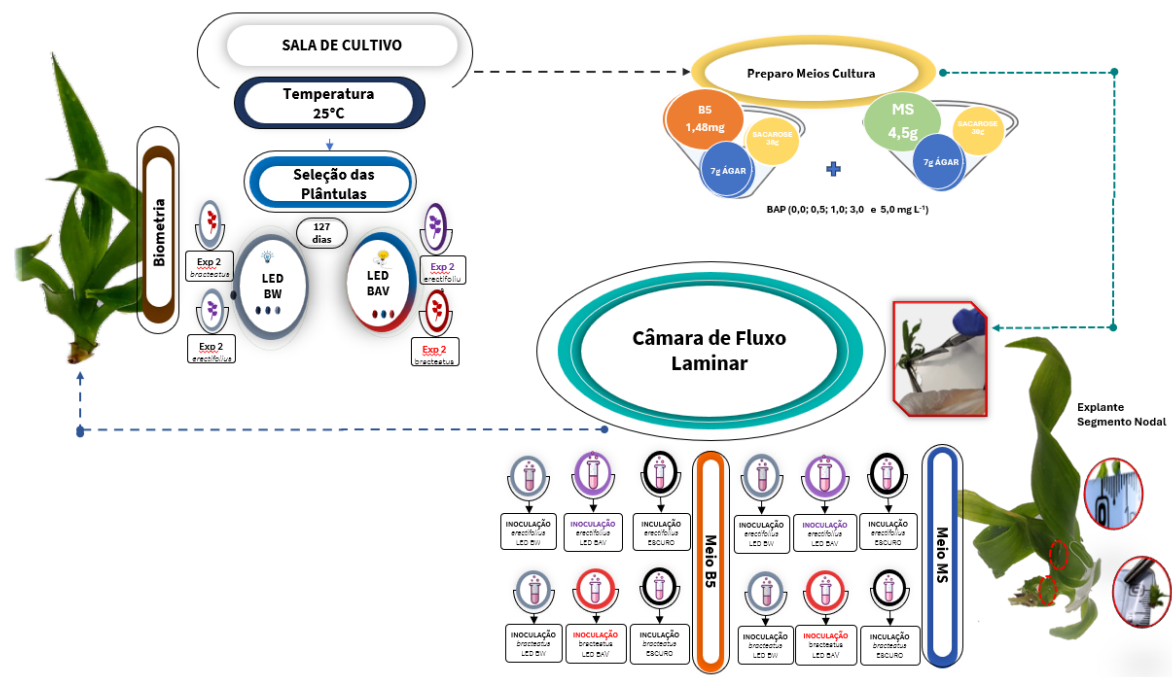
O **Experimento III** foi projetado para avaliar a **regeneração por explante de segmento nodal** de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Para isso, foram realizados **30 tratamentos**, combinando diferentes concentrações do regulador de crescimento **BAP**, dois meios de cultura (**MS** e **B5**) e três condições de luminosidade. O objetivo foi examinar os efeitos dessas variáveis na capacidade regenerativa dos explantes nodais.

As concentrações de **BAP** testadas foram distribuídas em cinco níveis: **0,0 mg L⁻¹** (controle); **0,5 mg L⁻¹**; **1,0 mg L⁻¹**; **3,0 mg L⁻¹**; **5,0 mg L⁻¹**.

Essas concentrações foram avaliadas sob três condições de luz distintas: 1) **Luz LED Branca (530 nm)**, 2) **Luz LED Azul-Vermelha (470 nm e 660 nm)** e 3) **Escuro (ausência de luz)**. Cada combinação de tratamento foi mantida em uma **temperatura controlada de 25°C ± 1°C**, assegurando um ambiente ideal para o crescimento e desenvolvimento dos explantes.

Esse delineamento experimental permitiu a análise da interação entre as variáveis estudadas, oferecendo *insights* sobre as condições ideais para maximizar a regeneração de segmentos nodais nas duas variedades de *Ananas comosus*.

Figura 6. Organograma Experimento III – Regeneração das plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob condições de luminosidades.



Fonte: Elaborados pelo Autor, 2024

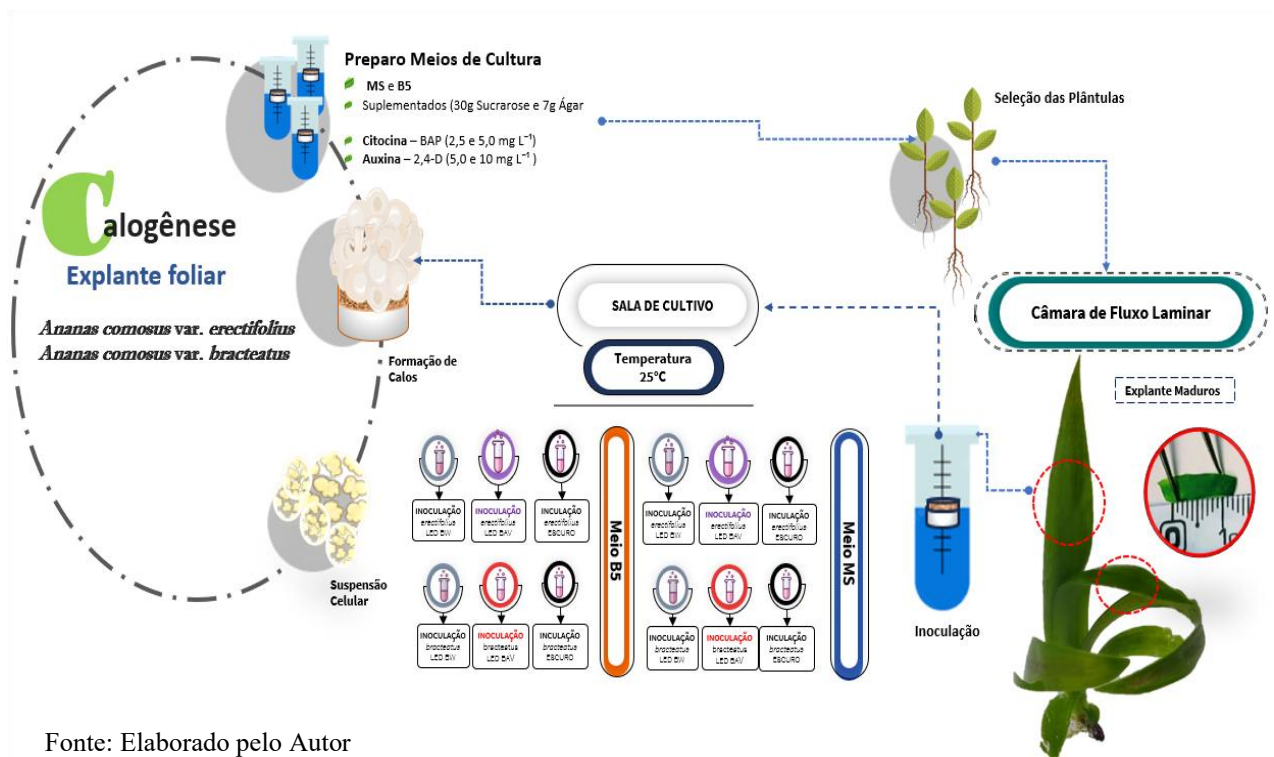
3.3.4 Experimento IV: Calogênese por Explante Foliar de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*.

O **Experimento IV** foi conduzido para investigar a **calogênese por explante foliar** de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e var. *bracteatus*. Para isso, foram estabelecidos **72 tratamentos**, considerando a interação entre dois meios de cultura (**MS** e **B5**), quatro combinações de reguladores de crescimento e três condições de luminosidade. O experimento avaliou o impacto dessas variáveis sobre a indução de calos, com foco em diferentes concentrações de **2,4-D** e **BAP**, amplamente reconhecidos por sua influência no processo de calogênese.

As **combinações de reguladores de crescimento** utilizadas foram organizadas em quatro grupos: **Combinação 1:** 2,4-D ($5,0 \text{ mg L}^{-1}$) + BAP ($2,5 \text{ mg L}^{-1}$); **Combinação 2:** 2,4-D ($5,0 \text{ mg L}^{-1}$) + BAP ($5,0 \text{ mg L}^{-1}$); **Combinação 3:** 2,4-D ($10,0 \text{ mg L}^{-1}$) + BAP ($2,5 \text{ mg L}^{-1}$); **Combinação 4:** 2,4-D ($10,0 \text{ mg L}^{-1}$) + BAP ($5,0 \text{ mg L}^{-1}$).

Cada combinação foi testada sob três condições de luz: 1) **Luz LED Branca (530 nm)**, 2) **Luz LED Azul-Vermelha (470 nm e 660 nm)** e 3) **Escuro (ausência de luz)**. Os explantes foram mantidos sob **temperatura controlada de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$** . A estrutura experimental resultou em **24 tratamentos únicos** (2 meios x 4 combinações x 3 condições de luz), com cada tratamento repetido **nove vezes**, totalizando **216 explantes cultivados**. Essa configuração experimental garantiu uma análise robusta, permitindo identificar os efeitos das interações entre os meios de cultura, os reguladores de crescimento e as condições de luz sobre a calogênese nas variedades estudadas.

Figura 7. Organograma Experimento IV – Calogênese de Explante Foliar das plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*.



Fonte: Elaborado pelo Autor

3.3.4.1 Preparo dos Meios de Cultura: Para o preparo dos meios de cultura utilizados nos experimentos, foram selecionados os meios **MS** e **B5**, amplamente utilizados em protocolos de cultivo *in vitro*. Ambos os meios foram suplementados com **30 g L^{-1} de sacarose** como fonte de carbono e os respectivos **reguladores de crescimento**, conforme os tratamentos experimentais. O **pH** das soluções foi ajustado para **$5,8 \pm 0,1$** , garantindo condições ideais para o desenvolvimento dos explantes. Após o ajuste do pH, os meios foram submetidos ao processo

de **autoclavagem** a **121°C**, sob pressão de **1 atm.** por **20 minutos**, assegurando a esterilidade necessária para os cultivos.

Essa etapa o **pH** foi ajustado a **5,8 ± 0,1**, para simular processos de adaptação e estimular o desenvolvimento dos explante.

3.4. Procedimento de Inoculação e Incubação

3.4.1 Método de assepsia

A metodologia de **assepsia das sementes** no Experimento I foi desenvolvida para garantir a limpeza e a viabilidade das sementes de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus* antes da germinação. Inicialmente, as sementes foram submetidas a uma **limpeza inicial** utilizando detergente neutro, seguida de enxágue em água corrente por um minuto. Posteriormente, as sementes foram imersas em uma solução de **hipoclorito de sódio e álcool 70%** por um minuto sob agitação, assegurando a remoção de contaminantes superficiais. Em ambiente de fluxo laminar, foi aplicado o fungicida **Cabrio® Top**, mantendo as sementes em agitação a 100 rpm durante 45 minutos, o que contribuiu para a eliminação de agentes microbianos e garantiu condições ideais para o cultivo.

Nos Experimentos III e IV, os **explantes nodais e foliares** foram inoculados em frascos de 150 ml contendo 50 ml de meio de cultura específico MS e B5, garantindo um ambiente controlado para a regeneração e calogênese. Após a inoculação, os frascos foram transferidos para uma **sala de crescimento** com **temperatura controlada de 25°C ± 1°C** e submetidos a três diferentes regimes de luz: **LED branca (530 nm)**, **LED azul-vermelha (470 nm e 660 nm)** e **escuro (ausência de luz)**. Esse procedimento permitiu avaliar os efeitos das condições de luz sobre o desenvolvimento e a resposta dos explantes, otimizando as condições experimentais para estudos de regeneração e calogênese.

3.5 Síntese dos Tratamentos e Condições Experimentais

A tabela a seguir apresenta uma síntese dos tratamentos e condições experimentais aplicados em cada experimento, incluindo as variedades estudadas, os meios de cultura, reguladores de crescimento, condições de luz e o número total de explantes utilizados. Essa consolidação destaca as principais variáveis de cada etapa metodológica, oferecendo uma visão integrada dos protocolos aplicados ao longo do estudo.

Tabela 1 - Consolidada dos Tratamentos e Condições Experimentais de cultura in vitro da espécie *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*.

Experimento	Variedade	Meio de Cultura	Reguladores de Crescimento	Condições de Luz $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Total de Explantes	Objetivo Experimental	Variáveis Avaliadas
I	<i>erectifolius</i>	MS	-	LED Branca (530 nm) LED Azul-Vermelha (470 nm e 660 nm)	160	Germinação in vitro	Taxa de germinação, Contaminação
II	<i>bracteatus</i>	MS	-	LED Branca (530 nm) LED Azul-Vermelha (470 nm e 660 nm)	160	Avaliação biométrica	Altura, Número, Largura Comprimento Folhas, Número, Comprimento Raízes, Crescimento
III	ambas	MS, B5	BAP (0,0; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0 mg L ⁻¹)	LED Branca, LED Azul-Vermelha, Escuro	270	Regeneração nodal	Taxa de regeneração, Morfologia
IV	ambas	MS, B5	2,4-D (5,0; 10,0 mg L ⁻¹) + BAP (2,5; 5,0 mg L ⁻¹)	LED Branca, LED Azul-Vermelha, Escuro	216	Indução de calos friáveis	Taxa de calogênese, Morfologia dos Calos

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

3.6. Análise e Avaliação dos Resultados

3.6.1 Critérios de Avaliação

A análise dos resultados do **Experimento I** baseou-se em critérios direcionados à eficiência do processo de germinação de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus*. A **taxa de sobrevivência** foi mensurada pela porcentagem de **sementes viáveis** ao longo do estudo. Paralelamente, a contaminação foi monitorada por meio do número de sementes comprometidas por **agentes microbianos**. A **porcentagem de germinação** foi determinada a partir da proporção entre sementes germinadas e o total cultivado, permitindo uma avaliação das condições experimentais e da eficácia do ambiente in vitro.

No **Experimento II**, realizou-se a **biometria das plântulas** de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus* em intervalos de 10 dias, ao longo de 127 dias, para acompanhar o desenvolvimento sob diferentes regimes de iluminação. As variáveis mensuradas incluíram: **Altura da Planta (AP)**, **Número de Folhas (NF)**, **Largura da Folha (LF)**, **Comprimento da Folha (CF)**, **Comprimento da Raiz (CR)**, **Número de Raízes (NR)** e **Crescimento Total (CT)**, obtido pela soma das variáveis individuais.

Esse **monitoramento periódico** viabilizou uma análise aprofundada das dinâmicas de **crescimento das plântulas** ao longo do experimento, evidenciando padrões distintos entre as **variedades** e destacando a influência das **condições de iluminação**. A biometria revelou respostas específicas de desenvolvimento, possibilitando a identificação de características fenotípicas que orientaram a seleção de explantes foliares de qualidade superior.

Os dados obtidos no **Experimento II** forneceram subsídios para a escolha criteriosa dos **explantes foliares** a serem utilizados no **Experimento IV**, estabelecendo uma correlação direta entre o desempenho das plântulas e a qualidade do material vegetal selecionado.

3.6.2 Avaliação de Regeneração e Calogênese (Experimentos III e IV)

Os Experimentos III e IV avaliaram a resposta regenerativa de explantes nodais e foliares de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus* submetidos a diferentes condições de luz e combinações de reguladores de crescimento. Para uma análise detalhada e padronizada, as respostas regenerativas foram classificadas em quatro categorias principais:

3.6.2.1 Explantes sem Regeneração: Explantes que não apresentaram brotações nem calos.

3.6.2.2 Explantes com Brotações (sem Calos): Explantes que desenvolveram brotações, mas não formaram calos.

3.6.2.3 Explantes com Calos (sem Brotações): Explantes que formaram calos, mas não produziram brotações.

3.6.2.4 Explantes com Brotações e Calos: Explantes que apresentaram ambos os tipos de resposta.

Além disso, foram realizadas as seguintes avaliações para complementar a análise regenerativa:

- **Taxa de Regeneração de Plântulas (%):** Calculada pelo número de plântulas regeneradas por explante em relação ao total de explantes cultivados.
- **Morfologia das Plântulas Regeneradas:** Incluiu a medição de variáveis biométricas como altura, número de folhas, número de raízes e comprimento das raízes, fornecendo uma análise detalhada da qualidade das plântulas formadas.

Essas categorias e variáveis foram avaliadas em termos percentuais e métricos, permitindo identificar a eficácia regenerativa sob diferentes condições experimentais. A abordagem integrada possibilitou uma compreensão abrangente das interações entre as condições de luz, os reguladores de crescimento e a capacidade regenerativa dos explantes.

3.6.3 Análise Quantitativa e Fórmulas Aplicadas

Para a análise quantitativa, foram aplicadas fórmulas específicas para calcular os percentuais e métricas de resposta regenerativa em cada categoria. Essas fórmulas basearam-se no número total de explantes cultivados por condição experimental e nas respostas observadas, conforme descrito a seguir:

1. Explantes sem Regeneração (%)

$$\text{Explantes sem Regeneração (\%)} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de Explantes sem Regeneração}) \times (\text{Total de Explantes Cultivados})}{100}$$

2. Explantes com Brotações (sem Calos) (%)

$$\text{Explantes com Brotações (sem Calos) (\%)} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de Expl. com Brotações (sem Calos)}) \times (\text{Total de Expl. Cultivados})}{100}$$

3. Explantes com Calos (sem Brotações) (%) =

$$\text{Explantes com Calos (sem Brotações) (\%)} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de Expl. com Calos (sem Brotações)}) \times (\text{Total de Expl. Cultivados})}{100}$$

4. Explantes com Brotações e Calos (%)

$$\text{Explantes com Brotações e Calos (\%)} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de Expl. com Brotações e Calos}) \times (\text{Total de Expl. Cultivados})}{100}$$

5. Taxa de Regeneração de Plântulas (%)

$$\text{Taxa de Regeneração de Plântulas (\%)} = \frac{(\text{N}^{\circ} \text{ de Plântulas Regeneradas}) \times (\text{Total de Explantes Cultivados})}{100}$$

As variáveis morfológicas (altura, número de folhas, número de raízes e comprimento das raízes) foram mensuradas para cada plântula regenerada, utilizando medições individuais que permitiram análises comparativas entre os tratamentos.

3.6.4 Interconexões Metodológicas:

A sequência metodológica empregada nesta tese foi estruturada para responder às questões centrais relacionadas à conservação e aplicações biotecnológicas de *Ananas comosus*. O **Experimento I** estabeleceu as condições ideais para a germinação das sementes, servindo como base para o desenvolvimento das plântulas nos experimentos subsequentes.

No **Experimento II**, o desenvolvimento biométrico foi avaliado, fornecendo informações críticas para a seleção de explantes de qualidade utilizados no Experimento IV – Calogênese Foliar. Simultaneamente, o **Experimento III** explorou a regeneração de explantes nodais, contribuindo para otimizar condições de regeneração.

Por fim, o **Experimento IV** aprofundou a compreensão da calogênese foliar sob diferentes condições de luz e reguladores de crescimento. Esse encadeamento metodológico permitiu uma abordagem integrada e sistemática, conectando as fases de desenvolvimento inicial à aplicação prática em biotecnologia.

3.6.5 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas com rigor metodológico para avaliar os resultados obtidos nos experimentos, garantindo a validade das conclusões e a identificação de padrões significativos. Os procedimentos estatísticos seguiram uma sequência estruturada, utilizando o software **BioEstat 5.8** e ferramentas de programação para visualização de dados.

3.6.5.1 Teste de Normalidade Shapiro-Wilk ($p = 0,05$):

Inicialmente, os dados de todas as variáveis foram submetidos ao teste de normalidade para verificar sua conformidade com os pressupostos estatísticos. Este procedimento assegurou a adequação do uso de análises paramétricas nos dados coletados.

3.6.5.2 Análise de Variância (ANOVA):

Foi aplicada para identificar diferenças significativas entre os tratamentos experimentais, considerando os fatores de **meio de cultura, concentrações de reguladores de crescimento e condições de luz**. A ANOVA permitiu avaliar como cada fator influenciou o desempenho das variáveis de crescimento das plântulas e a regeneração dos explantes.

3.6.5.3 Testes de Comparação de Médias:

- **Teste t de Student:** Realizado para comparar as médias de dois tratamentos distintos, avaliando diferenças significativas entre pares de grupos experimentais.
- **Teste SNK (Student-Newman-Keuls):** Empregado para comparações múltiplas entre as médias dos tratamentos, permitindo identificar aqueles que apresentaram maior influência no desenvolvimento das plântulas e na regeneração dos explantes.

3.6.5.4 Visualização Gráfica dos Dados:

Para facilitar a interpretação dos resultados, os dados foram representados por meio de gráficos desenvolvidos com **Python 3.10**, utilizando scripts personalizados no ambiente **Jupyter Notebook 7.0.8**. Os gráficos incluíram:

- **Curvas de Crescimento:** Representando o progresso temporal das variáveis avaliadas.
- **Gráficos de Regressão Linear:** Mostrando relações entre variáveis independentes e dependentes.
- **Gráficos de Dispersão:** Evidenciando a distribuição e os padrões das variáveis experimentais.

Essa abordagem gráfica complementou as análises estatísticas, permitindo uma avaliação clara e objetiva dos padrões observados nos experimentos.

3.6.2.5 Ferramentas e Bibliotecas Utilizadas:

Pandas: Utilizada para a manipulação, organização e análise de dados tabulares, facilitando o processamento e a estruturação das informações coletadas.

Matplotlib: Empregada na criação de gráficos detalhados, incluindo curvas de crescimento e visualizações básicas, permitindo uma análise visual clara dos resultados.

Seaborn: Aplicada para gerar visualizações estatísticas aprimoradas, como gráficos de dispersão e distribuições, destacando padrões e tendências nos dados experimentais.

Scikit-learn: Utilizada para modelagem de regressão linear e cálculo de métricas estatísticas, possibilitando uma análise mais profunda das relações entre variáveis experimentais.

3.6.5.6 Especificidades por Experimento:

Experimento II: As análises estatísticas avaliaram o impacto dos espectros de luz LEDs (branca e color) no desenvolvimento biométrico das plântulas. Variáveis como **altura da planta, número de folhas, número de raízes e comprimento da raiz**, foram comparadas entre os tratamentos. A visualização gráfica destacou tendências de crescimento e diferenças entre as variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus*.

Experimento III: Para investigar a regeneração por explante de segmento nodal, as análises foram complementadas por **gráficos de regressão linear e gráficos de dispersão**, que relacionaram variáveis como **altura da planta, número de folhas, largura da folha e comprimento da raiz** com a variável independente **crescimento**. Esses gráficos evidenciaram padrões importantes na interação entre as condições de luz, meio de cultura e reguladores de crescimento.

3.6.5.7 Referência a Resultados Esperados e Interconexões Metodológicas

Os resultados esperados deste estudo visam evidenciar, de forma detalhada, a influência dos diferentes espectros de luz LED no desenvolvimento biométrico das plântulas e na regeneração dos explantes nodais das variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *bracteatus*. Esses dados são fundamentais para a compreensão das respostas fisiológicas específicas das variedades sob condições controladas, fornecendo subsídios essenciais para a seleção de explantes foliares mais promissores nos tratamentos subsequentes.

Espera-se que os espectros de luz **LED Branca (530 nm) e LED Azul-Vermelha (470 nm e 660 nm)** apresentem efeitos distintos sobre variáveis biométricas, como **altura da planta, número de folhas, comprimento de folha, largura de folha, número de raízes e comprimento de raízes**, destacando diferenças significativas entre as variedades estudadas. Essa análise comparativa é crucial para identificar os melhores padrões de crescimento e desenvolvimento inicial, especialmente na escolha de explantes aptos para o **Experimento IV – Calogênese Foliar**.

Além disso, os resultados devem revelar como a interação entre os **fatores experimentais**, como **condições de luz, meios de cultura e reguladores de crescimento**, afetam a **regeneração de explantes nodais** e o **desenvolvimento das plântulas**. Tais descobertas permitirão **otimizar as condições experimentais futuras**, assegurando que os **tratamentos aplicados na fase de calogênese** sejam mais **eficientes e replicáveis**. Ressalta-se que esta

abordagem metodológica reforça a importância de integrar **análises biométricas** e **regenerativas** para a obtenção de resultados **robustos** e **aplicáveis** em protocolos de cultivo in vitro de espécies do gênero *Ananas*.

3.6.6 Metodologia para Avaliação Qualitativa dos Explantes Foliares no Experimento IV- Calogênese de explantes foliares de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*

3.6.6.1 Classificação Visual e Frequência de Ocorrência

O **Experimento IV** foi conduzido com o objetivo de induzir calos friáveis a partir de **explantes foliares** de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e var. *bracteatus*, utilizando diferentes combinações de reguladores de crescimento e condições de luz. Para uma análise qualitativa, foi realizado o acompanhamento visual das respostas dos **explantes foliares** em cada tratamento. Durante o período de incubação, os **explantes foliares** foram avaliados quanto às características morfológicas, como cor, textura, consistência e a presença de aspectos indesejáveis, como necrose e oxidação.

As observações foram feitas após 30 dias de cultivo sob três condições de luz: **Luz LED Branca (530 nm)**, **Luz LED Azul-Vermelha (470 nm e 660 nm)** e **Escuro (ausência de luz)**. As respostas morfológicas variaram conforme as condições experimentais. **Explantes foliares** submetidos à **Luz LED Branca** apresentaram predominantemente tonalidades esverdeadas, porém com áreas de oxidação em algumas combinações de reguladores de crescimento. Sob **Luz LED Azul-Vermelha**, os **explantes foliares** exibiram coloração mais escura, indicando possíveis processos de oxidação ou necrose. Já os **explantes foliares** mantidos no **escuro** frequentemente apresentaram textura endurecida e coloração marrom, refletindo uma resposta inadequada à ausência de luz.

De forma complementar, **as imagens registradas** serviram como base para avaliar a frequência de **formação de calos friáveis** e a **predominância de características indesejáveis**, como **necrose tecidual** e **oxidação**. Esses aspectos foram descritos detalhadamente, auxiliando na compreensão das condições que favorecem ou limitam a formação de calos friáveis nas variedades de *Ananas comosus*.

4.0 Referências

- ABDELFATTAH, A., *et al.* (2023). ***From seed to seed: the role of microbial inheritance in the assembly of the plant microbiome.*** Trends in Microbiology. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2022.10.009>
- AHMAD, A., *et al.* (2024). **Prediction of soil seed bank of piedmont and alluvial environments.** Brazilian Journal of Biology.
- ALVES, K. A., *et al.* (2019). **Multiplicação de abacaxizeiros ornamentais em diferentes concentrações de BAP e períodos de avaliação do desenvolvimento in vitro.** Biosci. J., 30(S1), 188-198.
- ALVES, M. B. N. (2022). **Uso empírico de plantas medicinais no tratamento de doenças.** Brazilian Journal of Development, 8(4).
- CAMPELO, M. F., *et al.* (2021). **Fenologia reprodutiva de *Ananas comosus* var. *erectifolius*.** Research, Society and Development, 10(5), e7010514621.
- CASTRO, A. C. R., *et al.* (2022). **Brazilian ornamental phytogenetic resources in Embrapa germplasm banks: obstacles and opportunities.** Ornamental Horticulture, 28(4), 396-406.
- COSTA, E. S. *et al.* (2013). **Dormancy of seeds and effect of temperature on seed germination of *Bauhinia forficata*.** Rev. Cienc. Agrar., v. 56, n. 1, p. 19-24, jan./mar. 2013. <http://dx.doi.org/10.4322/rca.2013.010>
- DIAS, G. J. S. (2021). **Multiplicação in vitro de bromélias *Aechmea aquilega* e *Bromelia balansae*.** IF Goiano.
- DIAS, G. J. S., *et al.* (2020). **Bromeliaceae nos fragmentos de Floresta Atlântica de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.** Rodriguésia, 71, e03092018.
- DUARTE, E. F., *et al.* (2023). **Diversidade de frutos e sementes em fitofisionomias de Cerrado e suas implicações para a conservação na Serra Dourada, Goiás, Brasil.** Sitientibus série Ciências Biológicas.
- FENG, L. *et al.* (2022) **The highly continuous reference genome of a leaf-chimeric red pineapple (*Ananas comosus* var. *bracteatus* f. *tricolor*) provides insights into elaboration of leaf color.** G3, 2022, 12(2), jkab452 <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab452> Advance Access Publication Date: 9 January 2022 GenomeReport
- FERREIRA, T. A. A. (2023). **Conservação in vitro através do crescimento lento de *Ananas lucidus* Mill.** Contribuciones a Las Ciencias Sociales, 16(5).

FORZZA, R. C., *et al.* (2020). **Coleções biológicas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro à luz das metas da GSPC/CDB.** *Museologia & Interdisciplinaridade*, 5(9), 136.

FAROOQ, I., *et al.* (2021). **Optimization of an improved, efficient and rapid in vitro micropropagation protocol for *Petunia hybrida*.** *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28, 3701-3709. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.05.018>

HARADZI, N. A., *et al.* (2021). **Regeneration and micropropagation of Meyer lemon (*Citrus x meyeri*) supported by polymorphism analysis via molecular markers.** *Scientia Horticulturae*, 286, 110225. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110225>

HIKISZ, P., & BERNASINSKA-SLOMCZEWSKA, J. (2021). **Beneficial Properties of Bromelain.** *Nutrients*, 13(12), 4313. <https://doi.org/10.3390/nu13124313>

HUANG, J. *et al.* (2023) **Composition, enzyme and antioxidant activities of pineapple,** *International Journal of Food Properties*, 24:1, 1244-1251, DOI: 10.1080/10942912.2021.1958840.

JUNGHANS, T. G., & JUNGHANS, D. T. (2021). **Armazenamento e reguladores de crescimento na germinação de sementes de abacaxizeiro.** *Embrapa Mandioca e Fruticultura, Boletim* 124.

KADAM, S. B., *et al.* (2023). **Thidiazuron-mediated callogenesis and biosynthesis of anti-cancerous monoterpene indole alkaloid camptothecin in *Nothapodytes nimmoniana* (J.Graham) Mabb. callus culture.** *South African Journal of Botany*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.03.022>.

KHALED, S. E., IBRAHIM, F. M., ABDELSALAM, E., *et al.* (2024). **Phytochemical profiling of *Ananas comosus* fruit via UPLC-MS and its anti-inflammatory and anti-arthritic activities: In Silico, In Vitro and In Vivo Approach.** *Biocatálise e Biotecnologia Agrícola*, 61, 103393. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103393>.

KOWALSKI, V. K., *et al.* (2023). **Morfologia e anatomia de plântulas de Bromeliaceae sob a perspectiva dos tipos ecofisiológicos.** *Flora*, 285, 151959. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151959>.

LAMEIRA, O. A., & CORDEIRO, I. M. C. (2023). **Cultivo de curauá.** *Embrapa Amazônia Oriental, Circular Técnica* 53.

LIMA, L. A. (2022). **Indução à ploidia em *Ananas comosus* var. *erectifolius* na Amazônia Ocidental.** *Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais. Universidade Federal do Amazonas.*

MALA, T., PIAYURA, S., & ITTHIVADHANAPONG, P. (2023). **Characterization of dried pineapple (*Ananas comosus* L.) peel powder and its application as a novel functional food**

ingredient in cracker product. Future Foods, 9, 100322. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100322>.

METIN, D., *et al.* (2024) **Callogenesis, embryogenesis, and plantlet initiation in citron watermelon (*Citrullus lanatus* var. *citroides*) via anther and unfertilized ovary culture.** Scientia Horticulturae, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113493>.

MIZABE, A. H., *et al.* (2022). **Temporary immersion systems (TIS): A comprehensive review.** Journal of Biotechnology, 357, 56-83. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2022.08.003>

MONICA, P., *et al.* (2024). **Lignocellulose-degrading chimeras: Emerging perspectives for catalytic aspects, stability, and industrial applications.** Renewable and Sustainable Energy Reviews.

MONTEIRO, J. S., VIANA-JÚNIOR, A. B., PRAXEDES, C. D. L. B., LAVELLE, P., & VASCONCELOS, A. S. (2021). **Litter thickness and soil pH influence the diversity of saprotrophic fungi in primary forest fragments in the Amazon.** *Pedobiologia*, 89, 150771. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2021.150771>

MUNARETO, J. D. *et al* (2021) **Adaptation of the Accelerated Aging Test on Quinoa Seeds.** Ensaios e Ciência, v.25, n5-esp, 2021, p.564-569. DOI: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2021v25n5-espp564-569>

PAZ, A. V. (2023). **Plantas Medicinais: uma revisão bibliográfica sobre três espécies nativas do Brasil.** UFSC.

PEREIRA, B. R. M., & Elias, M. J. (2010). **Extração e peletização da bromelina presente nos resíduos do abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill).**

PHULL, M., Ali, A., & Maity, B. (2024). **Sustainable synthesis of carbon dots from *Ananas Comosus* as renewable biomass: nanomolar level detection of glutathione.** RSC Sustainability, 2, 1599-1612. <https://doi.org/10.1039/d4su00004h>.

PORTELA, A. C. (2023) **Análise ambiental do uso da fibra de *Ananas erectifolius* (CURAUÁ) na produção de compósitos para uso industrial** [recurso eletrônico] / Andreia Cavalcante Portela. -- 2023. Dissertação (Mestrado em Agronegócios)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2023. Disponível no Repositório Institucional da UFGD em: <https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

QUEIROGA, V. P., *et al.* (2023). **Sistema produtivo do abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.).** Embrapa Mandioca e Fruticultura.

SANTOS FILHO, S. dos A., JUNGHANS, D. T., JUNGHANS, T. G., & SANTOS, M. G. (2020) **Efeito da temperatura e embebição na germinação de sementes de abacaxizeiro**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2020.

SARABANDI, M., *et al.* (2024). **Unveiling machine learning's impact on in vitro callogenesis optimization in *Crocus sativus* L.** South African Journal of Botany. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.02.053>.

SHU, J. (2024). **Propagation of pineapple (*Ananas comosus* L.) embryogenic cell suspension is regulated by LEAFY COTYLEDON1 gene AcoLEC1–1.** *Ciência Horticulturae*, 332, 113173. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113173>

SILVA, A. C. C. (2023). **Lacunas e perspectivas para o uso sustentável das espécies da sociobiodiversidade brasileira**. UFS.

SILVA, D., *et al.* (2020). **In vitro regeneration and callogenesis of *Libidibia ferrea***. Journal of Experimental Agriculture International, 42(4), 14-24.

SILVA, K. G., *et al.* (2025). **Food biopreservation, global trends and applications: A bibliometric approach**. Food Control.

SILVA-MORAES, V. K. O., *et al.* (2024). **Enhancing microshoot regeneration in "Turiaçu" pineapple through nodular cluster induction with putrescine**. South African Journal of Botany, 173, 312-319. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.08.023>

SOROKIN, A.; KOVALCHUK I., (2025). **Development of efficient and scalable regeneration tissue culture method for *Cannabis sativa***. Plant Science, Volume 350, 112296. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2024.112296>.

SOUZA, F. V. D., *et al.* (2019). **BRS Anauê e BRS Boyrá: as primeiras cultivares de abacaxi ornamental desenvolvidas no Brasil**. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 19(3), 382-386.

SOUZA, J. C., Rescarolli, C. L., & Nunez, C. V. (2018). **Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais**. Revista Fitos, 12(3), 269-280. <https://doi.org/10.17648/2446-4775.2018.550>.

YANG, W., *et al.* (2022). **A intensidade da luz afeta a coloração e a estrutura das folhas quiméricas de *Ananas comosus* var. *bracteatus***. Phytion, 2022.

ZÁRATE-SALAZAR, J. R., DA SILVA SOUZA, R. F., ARRUDA BEZERRA, F., PINHEIRO DA SILVA, D. M., COSTA CAMPOS, M. C., DA CUNHA, J. M., SANCHEZ PARRA, J. A., & MENEZES DE SOUZA, Z. (2024). **First approximation of soil quality critical limits in land**

use systems in the Brazilian Amazon. *CATENA*, 247, 108476.
<https://doi.org/10.1016/j.catena.2024.108476>

ZAVALA-ORTIZ, D. A., *et al.* **Development of Catharanthus callus cell lines for indole-derived alkaloids production.** South African Journal of Botany, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.03.003>.

ZOMER, A. V. (2021) **Germinação e longevidade de sementes de *Myrcia splendens* (SW.) DC. Como estratégia de conservação ex situ.** Monografia. Universidade do Sul de Santa Catarina.

Capítulo 1 – Aspectos da germinação in vitro de *Ananas comosus erectifolius* e *Ananas comosus bracteatus* sob temperatura e espectros de luz.



REVISTA
CONTRIBUCIONES
A LAS CIENCIAS
SOCIALES

Aspectos da germinação in vitro de *Ananas comosus erectifolius* e *Ananas comosus bracteatus* sob temperatura e espectros de luz

Aspects of in vitro germination of *Ananas comosus erectifolius* and *Ananas comosus bracteatus* under temperature and light spectra

Aspectos de la germinación in vitro de *Ananas comosus erectifolius* y *Ananas comosus bracteatus* bajo temperatura y espectros de luz

DOI: 10.55905/revconv.17n.10-348

Originals received: 09/20/2024

Acceptance for publication: 10/11/2024

Antonia Neidilê Ribeiro Munhoz

Doutoranda em Biotecnologia

Instituição: Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Endereço: Manaus -Amazonas, Brasil

E-mail: neidile.munhoz@ifam.edu.br

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2706-1028>

Priscila Mikellen Ribeiro Munhoz

Graduada em Engenharia de Produção

Instituição: Fundação Centro de Análise, Pesquisa e Inovação Tecnológica (FUCAPI)

Endereço: Manaus -Amazonas, Brasil

E-mail: pmunhoz03@gmail.com

Orcid: <https://orcid.org/0009-0007-2045-0112>

Luiz Antonio de Oliveira

Doutor em Ciências do Solo

Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)

Endereço: Manaus -Amazonas, Brasil

E-mail: luiz.oliveira@inpa.gov.br

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2008-7292>

Daniel da Silva

Doutor em Biotecnologia e Biodiversidade

Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)

Endereço: Manaus -Amazonas, Brasil E-mail: daniel.silva@inpa.gov.br

Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9217-4213>

Paulo de Tarso Barbosa Sampaio

Doutor em Ciências Florestais

Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)

Endereço: Manaus -Amazonas, Brasil

E-mail: sampaio@inpa.gov.br

Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0254-7651>

RESUMO

O Curauá (*Ananas comosus erectifolius* e *Ananas comosus bracteatus*) são espécies de bromélia com grande potencial econômico e ecológico, mas sua propagação natural está ameaçada por atividades predatórias e desmatamento. A germinação eficiente das sementes é crucial para a conservação da espécie e produção em larga escala. Este estudo investigou o efeito da temperatura e da luminosidade na germinação in vitro de sementes de *Ananas comosus* das variedades *erectifolius* e *bracteatus*. Sementes das duas variedades foram coletadas em dois municípios Rio Preto da Eva e Itacoatiara da Região Metropolitana de Manaus, AM e asseptizadas. A germinação ocorreu em tubos de ensaio contendo meio MS suplementado, sob a temperaturas 25°C e fotoperíodos de 16 horas com iluminações LED branca (LBW) e azul-vermelha (LBAV). A temperatura ideal para a germinação de 25°C, se confirmou, com as maiores taxas de germinação (88,97% para a variedade roxa e 98,95% para a vermelha) e menor tempo médio de germinação (77,5 e 47,83 dias, respectivamente). A luz LED branca proporcionou os melhores resultados para a germinação em ambas as variedades, possivelmente devido ao efeito sinérgico das diferentes cores da luz. A luz LED azul-vermelha também apresentou bons resultados, especialmente para a variedade *bracteatus*, promovendo a germinação com maior rentabilidade. O fotoperíodo de 16 horas de luz diária foi mais favorável à germinação em ambas as variedades. Este estudo fornece informações para otimizar a germinação in vitro de sementes de *erectifolius*, contribuindo para a produção eficiente de mudas, a conservação da espécie, auxiliar na preservação e no uso sustentável e valorização econômica dessa planta com grande potencial.

Palavra-chave: Curauá, *Ananas*, germinação, temperatura, luminosidade, LED, fotoperíodo, conservação

ABSTRACT

Curaua (*Ananas comosus erectifolius* and *Ananas comosus bracteatus*) are bromeliad species with great economic and ecological potential, but their natural spread is threatened by predatory activities and deforestation. Efficient seed germination is crucial for species conservation and large-scale production. This study investigated the effect of temperature and light on the in vitro germination of *Ananas comosus* seeds of the *erectifolius* and *bracteatus* varieties. Seeds of the two varieties were collected in two municipalities Rio Preto da Eva and Itacoatiara in the Metropolitan Region of Manaus, AM and aseptitized. Germination occurred in test tubes containing supplemented MS medium, at temperatures of 25°C and 16-hour photoperiods with white (LBW) and blue-red (LBAV) LED lighting. The ideal temperature for germination of 25°C was confirmed, with the highest germination rates (88.97% for the purple variety and 98.95% for the red variety) and the lowest average germination time (77.5 and 47.83 days, respectively). White LED light provided the best results for germination in both varieties, possibly due to the synergistic effect of the different light colors. The blue-red LED light also showed good results, especially for the *bracteatus* variety, promoting germination with greater profitability. The photoperiod of 16 hours of daily light was more favorable to germination in both varieties. This study provides information to optimize the in vitro germination of *erectifolius* seeds, contributing to the efficient production of seedlings, the conservation of the species, assisting in the preservation and sustainable use and economic valorization of this plant with great potential.

Keywords: Curaua, *Ananas*, germination, temperature, light, photoperiod, conservation.

1.0 INTRODUÇÃO

A Bromeliaceae, com seus 58 gêneros e 3.352 espécies, se destaca como a maior família com distribuição natural na América do Sul. No Brasil, encontramos as espécies *Ananas comosus erectifolius* e *Ananas comosus bracteatus*, popularmente conhecida como curauá, em praticamente todo o país, com diversas aplicações, desde a produção de suas fibras de alta qualidade com potencial para diversos segmentos industriais, como a produção de papel, celulose e biocombustíveis. Além disso, a planta apresenta propriedades medicinais, sendo fonte da enzima bromelina, utilizada na indústria farmacêutica e alimentícia e aproveitamento dos frutos até o uso como planta ornamental (GOUDA & BUTCHER, 2022).

Estudos de vários pesquisadores comprovam o grande potencial dos *Ananas* evidenciando seus efeitos farmacológicos e anti-inflamatórios, atividade antirreumática, atividade proteolítica, atividade hipolipidêmica, sensibilidade à insulina, atividades imunomoduladoras e efeitos protetores contra raios ultravioletas em embriões de peixe-zebra. Essa ampla gama de propriedades torna o curauá uma das espécies mais promissoras economicamente entre as produzidas na Amazônia brasileira (KARGUTKAR & BRIJESH, 2018; CHEN *et al.*, 2019; CORDEIRO *et al.*, 2019).

No entanto, a exploração predatória dessas variedades de *Ananas*, impulsionada pelo desmatamento e mineração da Amazônia, além da crescente demanda do mercado, colocam a espécie em risco de extinção (SANTANA, 2020; FERREIRA *et al.*, 2023; VÁSQUEZ-JIMÉNEZ *et al.*, 2023).

Nesse contexto, a propagação *in vitro* surge como uma ferramenta crucial para a conservação da espécie e produção em escala comercial, preservando a variabilidade genética e mitigando a perda de biodiversidade. Diversos estudos demonstram a baixa taxa de regeneração *in vitro* dessa espécie, exigindo pesquisas para otimizar o processo. (SANTOS & MELO, 2013; LIMA, BRITO & SANTANA, 2020; DUARTE *et al.*, 2023).

A otimização da propagação *in vitro* do curauá pode trazer diversos benefícios, incluindo:

- **Conservação da biodiversidade:** Permite a preservação de genótipos raros e ameaçados de extinção, garantindo a variabilidade genética da espécie.

- **Produção em escala comercial:** Possibilita a produção de mudas de alta qualidade em larga escala, atendendo à demanda do mercado de forma sustentável.
- **Redução da pressão sobre o meio ambiente:** Diminui a necessidade de extração da planta nativa, preservando os recursos naturais da Amazônia.
- **Desenvolvimento de novas variedades:** Permite a criação de novas variedades com características desejáveis, como maior produtividade, resistência a doenças e adaptabilidade a diferentes condições climáticas.

Agrega-se a esse cenário a magnitude dos extensos estudos sobre a longevidade das sementes e a germinação de espécies de florestas tropicais destacaram a importância da temperatura e da luz no controle da germinação. Sob uma copa fechada e uma densa cobertura de serapilheira, a luz é impedida de atingir a superfície do solo da floresta, inibindo assim a germinação de sementes fotoblásticas. Sementes de espécies que exigem luz podem indicar mudanças na qualidade espectral da luz e aumentos nas flutuações diárias (dia-noite) da temperatura do solo após a abertura da copa, onde a germinação é promovida (SILVEIRA, SANTOS & FERNANDES, 2010).

Em ambiente controlado, a luz, especialmente a luz azul, é um importante sinal para a germinação de sementes fotoblásticas, como as do *erectifolius* e *bracteatus*. Enquanto a luz vermelha é eficiente na otimização da fotossíntese para maior eficiência no desenvolvimento de plantas cultivadas. A temperatura também desempenha um papel crucial, otimizando os processos fisiológicos e bioquímicos da germinação. Assim, a quantidade de luz, seja azul, vermelha ou branca exigida pelas diferentes espécies de plantas ainda é a pergunta feita pelos pesquisadores (LEMOS, 2002; MASSA *et al.* 2008).

Nesta perspectiva este trabalho teve por objetivo investigar a influência da temperatura e dos espectros emitidos pelas LED branca e LED azul-vermelho na germinação *in vitro* de sementes de *Ananas comosus erectifolius* e *Ananas comosus bracteatus*, buscando otimizar o processo para a propagação em larga escala da espécie.

2.0 MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico, preparação da amostra e Área de estudo.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia Digital e Florestal do LASTED-INPA. As sementes de Curauá foram coletadas em dois municípios da região metropolitana de Manaus em pontos equidistantes. O *Ananas comosus erectifolius* foi coletado no

Ramal do Cafezal, ao longo da Am-010 km 135 no município de Rio Preto da Eva 2°52'45"S 59°23'00"W, enquanto o *Ananas comosus* var. *bracteatus* foi colhido km 145 a margem da Am-010 no município de Itacoatiara 2°53'48"S 59°20'53"W.

As análises biométricas dos frutos foram realizadas em balança analítica e paquímetro digital, medindo diâmetro e comprimento. A assepsia e higienização seguiram as normas da RDC 216 da ANVISA, com lavagem em água corrente, imersão em água clorada 200 ppm por 15 minutos, separação manual de casca, polpa e sementes, pesagem em balança analítica e acondicionamento da polpa e casca. As sementes foram submetidas ao protocolo de tratamento asséptico de Carollo & Filho (2016) da Embrapa, adaptado para sementes de *Ananas comosus* var. *erectifolius*.

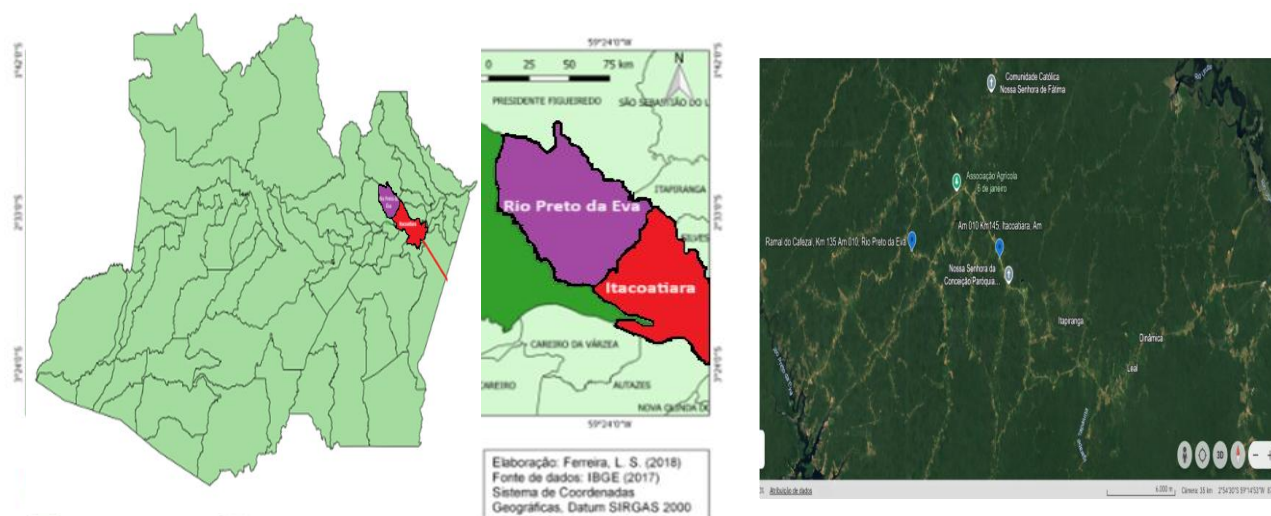


Figura 1 – Mapa Área de Estudo: Municípios de Rio Preto da Eva e Itacoatiara

Fonte: IBGE, 2017, Google Earth, 2024

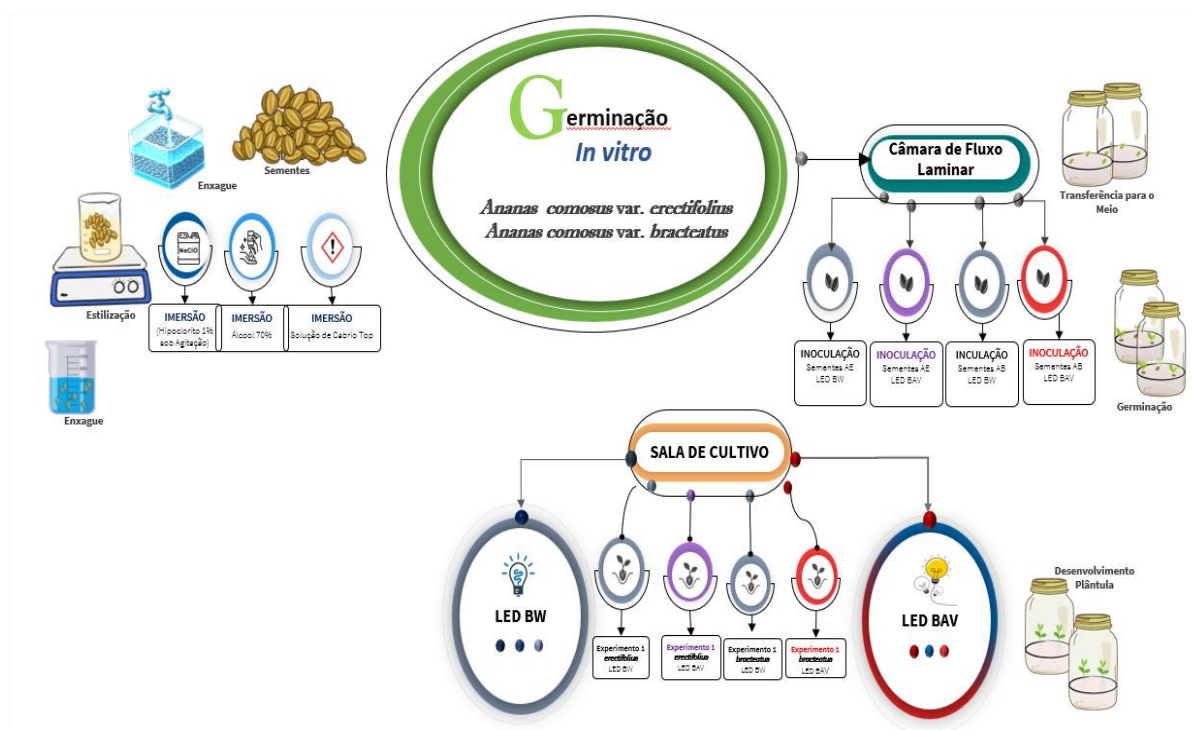
As sementes foram separadas por identificação visual de acordo com sua coloração, identificada a cor marrom escuro para sementes oxidadas que foram descartadas, a cor avermelhado claro e escuro para sementes apropriadas para germinação.

Assepsia e Germinação das Sementes

As sementes foram lavadas com detergente neutro ODD®, enxaguadas em água corrente e submetidas à imersão em solução de hipoclorito de sódio 1% por 30 minutos com agitação constante a 100 rpm. Em seguida, foram imersas em álcool 70% por 1 minuto e em solução de Cabrio® Top 1% por 45 minutos em câmara de fluxo laminar, sob agitação. Posteriormente,

lavadas 4 vezes com água destilada estéril e inoculadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS basal com 30 g L⁻¹ de sacarose, 7 g L⁻¹ de ágar-ágar e pH ajustado para $4.8 \pm 1,0$ antes da autoclavagem, visto que as sementes ficam no interior do fruto sob condições de enzimáticas com teor ácido.

Figura 2- Fluxograma Assepsia e Germinação de Sementes *In Vitro* de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

Condições de Crescimento

Para avaliar a influência da temperatura e da intensidade de luz na germinação das sementes de *Ananas comosus erectifolius* var. roxo e vermelho, diferentes combinações desses parâmetros foram testadas. A temperatura de 25°C foi escolhida com base em estudos que demonstram sua eficácia na germinação de diversas espécies, incluindo *Ananas comosus*. As sementes foram expostas a luzes LED vermelha (660 nm) e azul (400-500 nm), conhecidas por seus efeitos fotossintéticos e pelo estímulo ao alongamento celular, podendo influenciar positivamente na germinação e no desenvolvimento das plântulas. Como controle, utilizou-se lâmpadas fluorescentes LED brancas (460-560 nm), que fornecem um espectro completo de cores, permitindo comparações robustas com os LEDs vermelhos e azuis (LAZZARRINI *et al.*, 2017).

Análise Estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 40 repetições por variedade, utilizando tubos de ensaio contendo uma semente cada. As sementes foram submetidas a diferentes condições espectros de luz, sob 25°C de temperatura, buscando avaliar o impacto dessas variáveis no tempo de cultivo, viabilidade dos explantes, contaminação fúngica e taxa de germinação. A germinação foi definida como a emissão da radícula com 0,1 mm de comprimento, um parâmetro crucial para a análise do desenvolvimento inicial das plântulas (GEORGE, 2008, HARTMANN *et al.*, 2011).

Os dados coletados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk ($p = 0,05$) para verificar a adequação aos pressupostos estatísticos. Em seguida, as variáveis foram analisadas por meio de análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelos testes t (*Student*) e *Student-Newman-Keuls* (SNK) ($p > 0,05$).

As análises estatísticas foram realizadas no software BioEstat 5.8, e os gráficos de curva de crescimento foram gerados utilizando scripts Python 3.10 na plataforma Jupyter Notebook versão 7.0.8. Essa abordagem estatística robusta permitiu uma avaliação precisa da influência das variáveis estudadas no processo de germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* (GOMEZ & GOMEZ, 1984; ZAR, 2010).

3.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Morfologia da espécie *Ananas comosus* var. *braqueatus*

Ananas comosus var. *bracteatus* (abacaxi-vermelho) é uma monocotiledônea tropical pertencente à família Bromeliaceae, reconhecida pelo seu elevado valor ornamental, devido às suas folhas quiméricas verde-brancas e frutos vermelhos, sendo amplamente utilizada na decoração ao ar livre e como fonte de flores de corte. As folhas quiméricas (Figura 3B) dessa variedade são compostas por tecido verde central (GT) e tecido albino (AT), sendo que a inibição da biossíntese de clorofila e carotenoides, bem como o desenvolvimento de cloroplastos, resulta na coloração branca do tecido marginal das folhas quiméricas (MARTIN, 1994, XUE *et al.*, 2019).

A ausência de clorofila e carotenoides nas plantas geralmente impacta negativamente as funções fotossintéticas. No entanto, a falta de clorofila no tecido marginal das folhas quiméricas de *Ananas comosus* var. *bracteatus* não prejudica o crescimento normal das folhas por serem completamente integrados, e não indivíduos separados, surge a incerteza sobre se os tecidos verde e branco das folhas quiméricas desempenham funções cooperativas na fotossíntese, e por que

ambos os tecidos conseguem crescer. A compreensão do mecanismo cooperativo entre os tecidos quiméricos é crucial e significativa para desvendar os mecanismos de crescimento e desenvolvimento das plantas normalmente (ZHU *et al.*, 2019, MAO *et al.*, 2020, WANG *et al.*, 2021; LIN *et al.*, 2023).

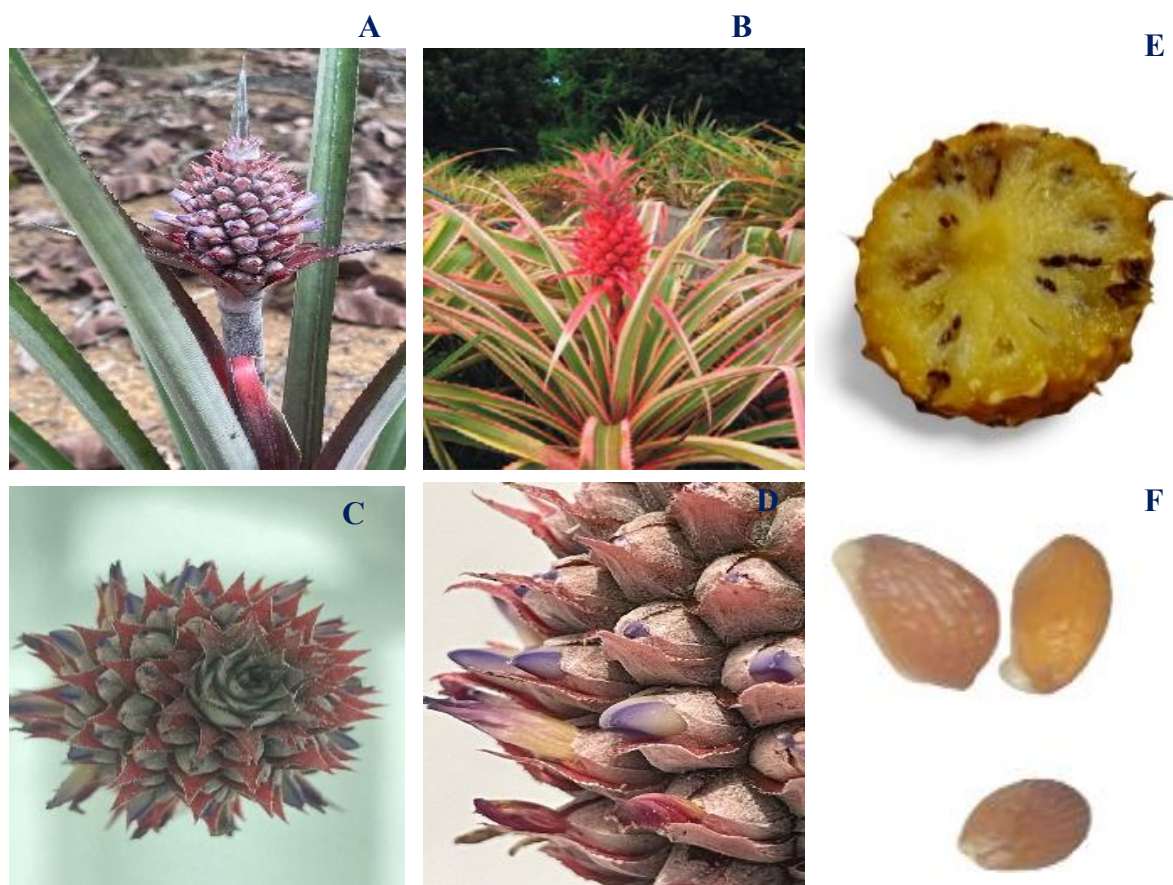


Figura 3 – **A)** *Ananas comosus* var. *bracteatus nativo*; **B)** AB Cultivado EMBRAPA; **C)** Coroa do Fruto; **D)** Inflorescência; **E)** Polpa; **F)** Sementes (barra de escala 2.5mm)

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024 (A, C, D, E); SOUZA, 2017 (B)

3.2 Morfologia da espécie *Ananas comosus* var. *erectifolius*

O *Ananas comosus* var. *erectifolius* (curauá roxo) é uma planta de porte médio a grande. Suas folhas são rígidas, espessas e eretas, atingindo 1,0 metro ou mais de comprimento (Figura 4A). A lâmina foliar possui cerca de 3,5 cm de largura e é geralmente desprovida de espinhos, exceto por um acúleo forte na ponta. O escapo é ereto, alongado e fino, com até 1,5 cm de espessura, sendo adornado por brácteas foliáceas eretas ao longo de sua extensão (SOUZA, SOUZA, PÁDUA & FERREIRA, 2017).

A inflorescência do curauá apresenta brácteas florais pequenas e lisas. O fruto é pequeno, um pouco maior que a inflorescência, com formato cilíndrico ou subcilíndrico (Figura 4B). A roseta de brácteas foliáceas apical (coroa) é relativamente grande e, às vezes, é acompanhada por diversas rosetas menores (coroinhas). A polpa do fruto (Figura 4E) é escassa, fibrosa e de sabor desagradável, características que o tornam inadequado para o consumo *in natura* (CRESTANI *et al*, 2010; SOUZA, SOUZA, PÁDUA & FERREIRA, 2017).

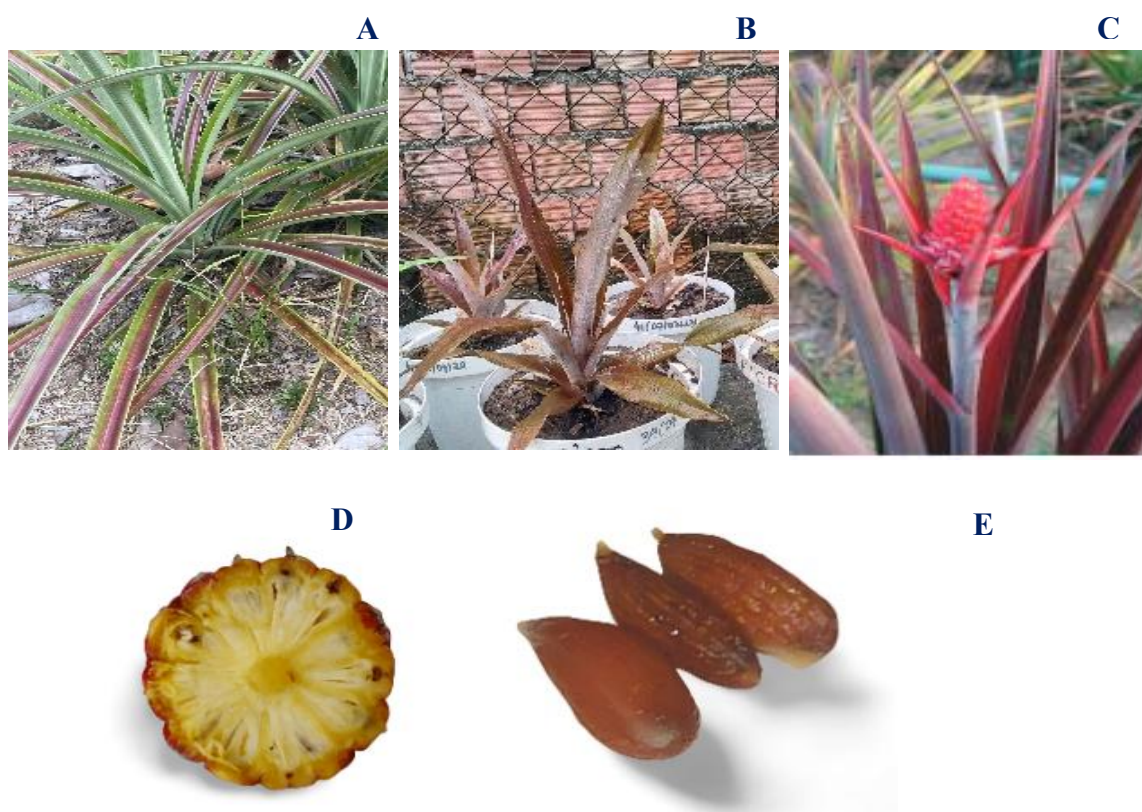


Figura 4 – A) *Ananas comosus* var. *erectifolius* nativo; **B)** cultivado na EMBAPA; **C)** cultivado INPA; **D)** Polpa; **E)** Sementes (barra de escala 2.5mm)

Fonte: A, C, D, E (MUNHOZ, 2024); B (SOUZA, 2017)

O caule do *Ananas comosus* var. *erectifolius* é curto e robusto, sustentando a roseta foliar e permitindo o desenvolvimento de brotos laterais, que facilitam a propagação vegetativa. As inflorescências emergem do centro da roseta e são do tipo espiga, com flores pequenas e hermafroditas, que apresentam coloração roxo-azulada. Após a floração, o curauá produz um fruto composto, formado pela fusão de suas flores individuais, embora esses frutos sejam geralmente menores e menos suculentos que os da variedade *comosus*. A morfologia do curauá roxo reflete uma adaptação tanto ao cultivo quanto ao uso tradicional de suas fibras, sendo esta planta

particularmente importante em práticas agrícolas sustentáveis e em programas de conservação de espécies nativas.

As sementes das variedades *erectifolius* (Figura 4E) e *bracteatus* (Figura 3F) de *Ananas comosus* apresentaram uma contagem significativamente maior em comparação com *A. ananassoides*, o que sugere uma possível incompatibilidade intrínseca e esterilidade acumulada devido à reprodução vegetativa predominante. As sementes, arredondadas em uma extremidade e afiladas na outra, com uma cor levemente avermelhada e cobertas por uma camada mucilaginosa, são características que influenciam diretamente na germinação (LIDUEÑA-PÉREZ, 2023, SILVA *et al.*, 2011).

A morfologia das sementes é um aspecto primordial para a germinação. As características físicas, como forma e presença de mucilagem, podem afetar a absorção de água e a proteção contra patógenos. A forma arredondada e a cobertura mucilaginosa das sementes de curauá roxo podem facilitar a retenção de umidade, essencial para a germinação inicial (SILVA & SCATENA, 2011).

Além disto, a cor levemente avermelhada das sementes pode indicar a presença de compostos bioquímicos que influenciam a dormência e a viabilidade das sementes. Esses fatores morfológicos, juntamente com as condições ambientais adequadas, são determinantes para o êxito na germinação (SILVA & SCATENA, 2011; LEMOS *et al.*, 2002).

3.3 Análise Comparativa de *Ananas comosus* var. *erectifolius* (ACE) e *Ananas comosus* var. *bracteatus* (ACB) em LED Branca e LED Color (Azul-Vermelho)

Os resultados da germinação das sementes de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob luz LED Branca (Fig.5B e Fig.5C) indicaram comportamentos distintos. A variedade *bracteatus* apresentou uma germinação inicial aos 11 dias com 1 explante germinado, enquanto a variedade *erectifolius* (Fig. 5A e Fig. 5C) iniciou a germinação aos 30 dias com 3 explantes germinados. Aos 26 dias, a germinação de *Ananas comosus* var. *bracteatus* aumentou para 11 explantes, e aos 30 dias atingiu 19 explantes, comparável aos 35 explantes de *Ananas comosus* var. *erectifolius* aos 61 dias. Aos 78 dias, *Ananas comosus* var. *bracteatus* alcançou 32 explantes germinados, enquanto *Ananas comosus* var. *erectifolius* estabilizou em 35 explantes germinados (OLIVEIRA, 2019; SILVA *et al.*, 2020.).

A estabilização da germinação de *Ananas comosus* var. *erectifolius* ocorreu rapidamente após 61 dias, mantendo-se constante até o final do período de 127 dias. Por outro lado, *Ananas*

comosus var. *bracteatus* continuou a aumentar sua germinação até os 96 dias, atingindo 33 explantes germinados (SOUZA *et. al.*, 2021). Esses dados sugerem que, para uma germinação rápida e eficiente, *Ananas comosus* var. *erectifolius* sob luz LED Branca é mais adequado, pois atinge rapidamente um número elevado de explantes germinados. *Ananas comosus* var. *bracteatus*, apesar de uma germinação inicial mais rápida, apresenta um crescimento gradual e contínuo (MARTINS *et. al.*, 2018).

Em termos de eficiência inicial, *Ananas comosus* var. *bracteatus* mostrou-se mais rápido e eficaz sob luz LED Color (Azul-Vermelho), apresentando 10 explantes germinados aos 11 dias, enquanto *Ananas comosus* var. *erectifolius* iniciou com 3 explantes aos 30 dias. A germinação de *Ananas comosus* var. *bracteatus* aumentou para 13 explantes aos 26 dias e 19 explantes aos 30 dias, enquanto *Ananas comosus* var. *erectifolius* permaneceu com 3 explantes. Aos 46 dias, *Ananas comosus* var. *bracteatus* continuou aumentando para 32 explantes, atingindo 39 explantes aos 78 dias, mantendo esse número até os 127 dias. *Ananas comosus* var. *erectifolius*, por sua vez, estabilizou em 35 explantes a partir dos 46 dias (ALMEIDA *et. al.*, 2022; FERREIRA *et. al.*, 2023).

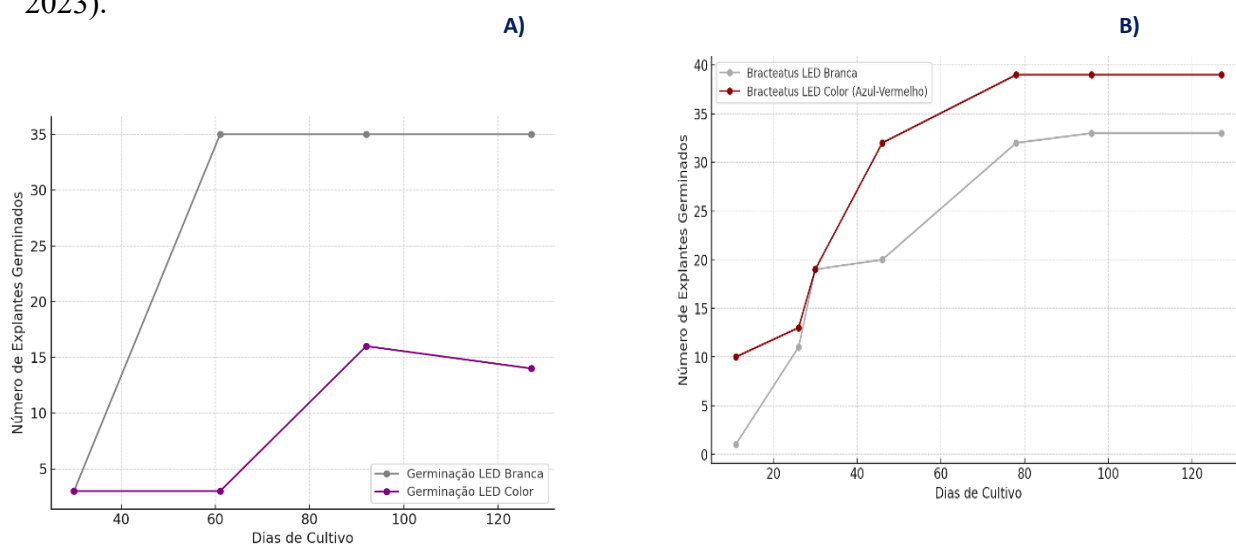
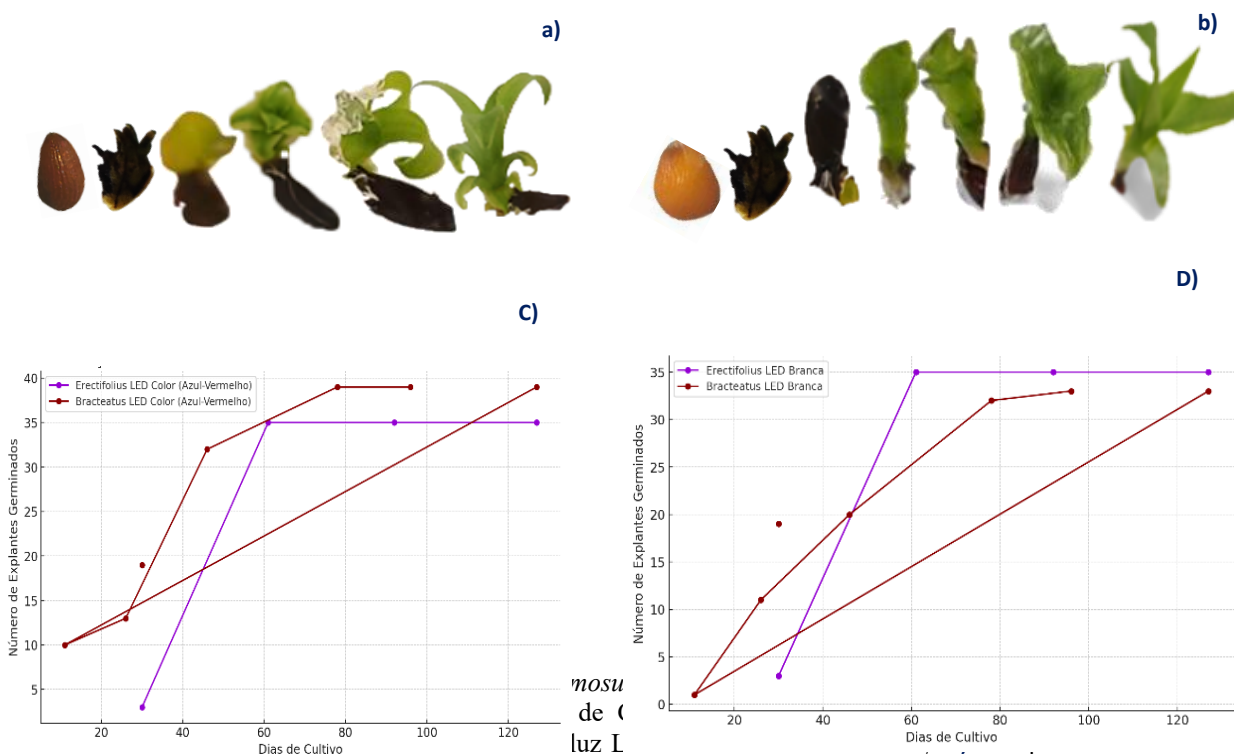


Figura 5 - A) Comparativo Curva de Crescimento da Germinação de *Ananas comosus* var. *erectifolius* luz Led Branca e luz Led Color; **B)** Comparativo Curva de Crescimento da Germinação de *Ananas comosus* var. *bracteatus* luz Led Branca e luz Led Color.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

A luz LED Color (Azul-Vermelho) promoveu uma germinação mais rápida e constante para *Ananas comosus* var. *bracteatus* (Figura 5B e Figura 5D), atingindo um platô mais cedo. *Ananas comosus* var. *erectifolius* também respondeu bem a essa condição de luz, mas com um início de germinação mais lento, atingindo a estabilização em 35 explantes. A escolha da iluminação LED Color (Azul-Vermelho) para *Ananas comosus* var. *bracteatus* parece ser mais

adequada para atingir um número maior de explantes germinados mais cedo. A luz LED Color também é eficaz para *Ananas comosus* var. *erectifolius* (Figura 5A e Figura 5D), promovendo uma germinação rápida e estabilizada (CARVALHO, ROSSATTO, e DAVIDE, 2014; PEREIRA *et. al.*, 2020; COSTA *et. al.*, 2021).



Crescimento da Germinação de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* em luz Led Branca.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Os dados sugerem que tanto a iluminação LED Branca quanto a LED Color (Azul-Vermelho) são eficazes na promoção da germinação das sementes de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. No entanto, a LED Color promove uma germinação inicial mais rápida e atinge um número máximo de explantes germinados mais cedo no período de cultivo. A escolha do espectro de luz deve considerar os objetivos específicos do cultivo e o período de tempo disponível para a germinação (LIMA, *et. al.* 2019; RANAL, FERREIRA *et. al.*, 2023).

3.4 Efeito da Temperatura

Os resultados indicam que a temperatura tem um impacto expressivo na taxa de germinação das sementes de curauá roxo. Estudos anteriores demonstraram que diferentes regimes de

temperatura podem influenciar a viabilidade e o tempo de germinação de sementes de *Ananas*. No presente estudo, as sementes expostas com a temperatura controlada apresentaram uma maior taxa de germinação em comparação com aquelas submetidas a temperaturas extremas (JUNGHANS *et al.*, 2015).

A temperatura ótima para a germinação de sementes de bromélias, incluindo *Ananas comosus*, é frequentemente em torno de 25°C (Brasil, 2009). Esse achado é corroborado pelos nossos resultados, onde a temperatura constante de 25°C promoveu uma taxa de germinação mais alta e uniforme. A manutenção de uma temperatura ideal é essencial para garantir a viabilidade das sementes e um desenvolvimento inicial robusto, ter proporcionado um ambiente assertivo para a ativação dos processos fisiológicos relacionados à germinação, como a hidratação da semente, a absorção de nutrientes e a síntese de hormônios vegetais (BEWLEY, BRADFORD, HILHORST, NONOGAKI, 2013; JUNGHANS *et al.*, 2015).

Temperaturas mais baixas (20°C) apontam para o atraso na germinação e na redução da taxa final de germinação. Isso pode estar relacionado à menor atividade enzimática e à menor disponibilidade de água em baixas temperaturas. Já temperaturas mais altas (30°C) também podem apresentar efeito negativo na germinação, possivelmente devido à desnaturação de proteínas e à desativação de enzimas (PRADHAN, BANDYOPADHYAY, & PATHAK, 2011; HAJ SGHAIER *et al.*, 2022).

Além disso, a temperatura apresenta-se como um dos principais fatores que influenciam a taxa de germinação de sementes. No presente estudo, confirmou-se que a temperatura ideal para a germinação das sementes de curauá das variedades roxa e vermelha foi de 25°C (Tabela 1). Essa temperatura proporcionou as maiores taxas de germinação (88,97% para a variedade roxa e 98,95% para a variedade vermelha) e menor tempo médio de germinação (Tabelas 1). (MARCOS-FILHO *et al.*, 2010; BEWLEY *et al.*, 2013).

A temperatura de 25 °C em fotoperíodo de 16 h e sob as luminosidades LBW e LBAV, proporcionaram o menor tempo médio de germinação das sementes de curauá roxo e abacaxi-vermelho (77,5 e 47,83 dias). Em LBW, o tempo médio completo de germinação foi de 77,5 e 49,33 dias para as mesmas variedades respectivamente.

Esses resultados corroboram com os de estudos anteriores realizados com outras espécies de bromeliáceas, como *Vriesea splendens*) e *Guzmania lingulata*, que também demonstraram a importância da temperatura ideal para a germinação eficiente. Assim como, para a espécie *Cereus jamacaru* DC que apresentou a maior taxa de germinação com temperatura de 25 °C sob

fotoperíodo de 12 horas (SILVA, GOMES-JUNIOR, MELO., 2012; ABUD, LIMA, SILVA, GOMES, 2013).

3.5 Efeito da Luminosidade

A germinação das sementes é um processo crucial para o ciclo de vida das plantas, determinando o sucesso do estabelecimento de novas plântulas. No caso da família das Bromeliaceae a influência da luz e da temperatura na germinação tem sido um tema de grande interesse científico, com implicações importantes para a propagação e conservação dessas espécies (VIEIRA, SILVEIRA, 2010, CASTRO *et al*, 2022)

Tabela 1: Comparação das Médias de porcentagem, Efeito da temperatura na Média de Tempo de Cultivo (MTC) e Média Germinação de Sementes entre diferentes condições de luminosidade.

	Temperatura	Germinação (%)		MTC (dias)		MGT	
		Fotoperíodo 16h (<i>in vitro</i>)					
		LBW	LBAV	LBW	LBAV	LBW	LBAV
Sementes <i>Ananas comosus erectifolius</i> (SAE)	25°C	88.10	88.97	77.5a*	77.5aV	12aV	8.75aV
Sementes <i>Ananas comosus bracteatus</i> (SAB)		89.18	98.95	47.83bV	49.33b	19.33b	29.5b
¹ DMS/SAE _(LBW/LBAV)				62.50	62.00	65.50	62.00
² DMS/SAB _(LBW/LBAV)				9.33	62.00	9.33	0.75
¹ V/SAE _(LBW/LBAV)				1729.67	1076.97	44.25	44.25
² V/SAB _(LBW/LBAV)				1076.97	989.87	150.67	120.33

*Médias seguidas de mesma letra minúsculas, diferem entre si pelo t-Test ($p < 0,05$).

*Médias seguidas de mesma letra maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pela variância t-Test.

Diferença entre médias Tempo de Cultivo e Germinação em Sementes de *Ananas comosus erectifolius* (SAE)
Diferença entre médias Tempo de Cultivo e Germinação em Sementes de *Ananas comosus bracteatus* (SAB)

Neste estudo, a luz de LED branca (LBW), que contém um espectro completo de luz, proporcionou os melhores resultados para a germinação das sementes da variedade *erectifolius*, possivelmente devido ao efeito sinérgico das diferentes cores da luz.

A LED branca se destacou como a fonte de luz mais eficiente para a germinação das sementes de variedade *erectifolius*, promovendo um processo mais rápido e com menor incidência de doenças fúngicas. A luz branca possui um espectro completo de luz, que fornece às sementes a energia necessária para a fotossíntese e o desenvolvimento inicial das plântulas. Já, a luz LED azul-vermelha também apresentou bons resultados, especialmente para a variedade *bracteatus* (Tabela 1) promoveu a germinação das sementes da variedade *bracteatus* (com maior rentabilidade do que a luz branca com a média de 29,5 sementes a cada 30 dias.

Essa combinação de cores simula o amanhecer e o crepúsculo, sendo importante para a fotomorfogênese das plântulas. Isso sugere que a variedade avermelha pode ser mais sensível à luz azul do que a variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius*. A luz azul é importante para o fototropismo das plântulas, enquanto a luz vermelha promove a produção de antocianinas, pigmentos que protegem as plantas contra o estresse oxidativo. (SMITH, 2017; NASSER *et al.*, 2019;).

Estudos anteriores demonstraram que a luz azul estimula a produção de giberelinas, hormônios vegetais responsáveis pela promoção do crescimento e a germinação de sementes de diversas espécies. A luz vermelha, por outro lado, pode ter efeito inibitório da germinação em algumas espécies ou efeito fotoblasto positivo, induzindo a germinação de sementes fotoblásticas que estão intimamente ligadas à adaptação das espécies de Bromeliaceae aos seus habitats específicos (SHROPSHIRE, WOCHOTZKI, ZURBRIGGEN, 2012; BEWLEY *et al.*, 2013).

Em estudos sobre o efeito da luz e da temperatura na germinação de bromélias, demonstrou que as sementes dessas espécies apresentam fotoblastismo positivo, respondendo à luz com o início da germinação. A ausência de diferenças significativas entre os regimes fotoperiódicos de 8, 12 e 16 horas sugere que a duração do fotoperíodo não é um fator determinante para a germinação nessas espécies (MATYSIAK, KOWALSKI, 2019).

No entanto, o presente estudo, observou-se que o fotoperíodo, definido como a duração do ciclo luminoso (horas de luz por dia), exerceu influência significativa na germinação das sementes de *Ananas comosus* var. *erectifolius*. O fotoperíodo de 16 horas de luz diária apresentou os maiores valores de Índice Médio de Germinação (MGT) para ambas as variedades *erectifolius* e *bracteatus*.

3.6 O Fotoperíodo como Modulador da Germinação em *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*: Uma Análise Detalhada.

Estudos prévios demonstraram que fotoperíodos curtos (8 horas de luz por dia) podem favorecer a germinação de sementes da variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius*, enquanto

fotoperíodos mais longos (16 horas de luz por dia) podem ser mais adequados para a germinação da variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Essa resposta diferencial ao fotoperíodo sugere a existência de mecanismos fisiológicos distintos que regulam a germinação em cada variedade (NASSER *et al.*, 2019).

No entanto, é importante ressaltar que a definição do fotoperíodo ideal para o *Ananas comosus* nas duas variedades, requer investigações mais aprofundadas, considerando as características genéticas e ambientais de cada variedade. Estudos futuros que explorem a interação entre fotoperíodo, temperatura, qualidade da luz e outros fatores abióticos poderão fornecer informações valiosas para otimizar a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas tanto da *Ananas comosus* var. *erectifolius* como da *Ananas comosus* var. *bracteatus*, contribuindo para a produção eficiente dessa importante espécie vegetal.

3.7 Importância para a Bromeliaceae e Conservação

A flora brasileira possui um grande potencial ornamental que ainda é pouco explorado, muitas vezes com uma utilização limitada e extrativista de espécies, o que resulta em erosão genética. A exploração de espécies nativas de diferentes ecossistemas pode representar uma alternativa promissora para a criação de produtos regionais diferenciados na floricultura brasileira. Embora haja uma vasta quantidade de recursos fitogenéticos, as iniciativas de conservação, domesticação e melhoramento das espécies ainda são escassas, comprometendo seu aproveitamento sustentável (CASTRO *et al.*, 2022).

Atualmente, os esforços de conservação estão voltados para o conhecimento biológico agregado aos recursos genéticos, a coleta extensiva e a conservação de longo prazo, além da manutenção de acervos e atividades de caracterização e documentação de acessos e informações associadas no Sistema Alelo. Alguns Bancos de Germoplasma Ativos (BAG) preservam acessos de interesse para a floricultura, incluindo os Bancos de Germoplasma de Abacaxi, *Passiflora*, *Paspalum*, *Curcubitaceae* e *Capsicum*, que, em conjunto com programas de melhoramento, têm explorado novos usos para o germoplasma preservado. (ALELO, 2022)

O AGB-Abacaxi conserva cerca de 750 acessos das variedades botânicas *Ananas comosus* (L.) Merr., *Ananas comosus* var. *ananassoides* (Baker) Coppens & F. Leal, *Ananas comosus* var. *bracteatus* (Lindl.) Coppens & F. Leal, *Ananas comosus* var. *parguazensis* (Camargo & L.B. Sm.) Coppens & F. Leal, *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B. Sm.) Coppens & F. Leal e *Ananas macrodontes* E.Morre. As atividades de caracterização abrangem aspectos agrônômicos, morfológicos, bioquímicos e moleculares, apoiando o programa de melhoramento genético e

identificando genótipos promissores para usos diversos como alimentício, ornamental e como fibras para as indústrias têxtil, automotiva e de construção civil. Com a contribuição do AGB, quatro cultivares de abacaxi ornamental para flores de corte e plantas de vaso foram registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil - RNC/MAPA (CASTRO *et al.*, 2022).

A compreensão dos fatores que influenciam a germinação das sementes de bromélias é essencial para o desenvolvimento de estratégias eficazes de propagação e conservação dessas espécies. A germinação das sementes de bromélias é regulada por sinais ambientais, como a luz e a temperatura, que desempenham papéis críticos nesse processo. Embora existam estudos que abordam esses fatores, os mecanismos subjacentes à regulação da dormência e germinação de sementes ainda são pouco compreendidos (SOUZA *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2023; SOUZA *et al.*, 2021;).

A luz é um dos principais fatores que afetam a germinação de sementes de bromélias. A otimização das condições de iluminação pode contribuir significativamente para o sucesso da germinação e o estabelecimento de novas plântulas. Estudos têm mostrado que diferentes espectros de luz podem influenciar de maneira distinta a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas (SOUZA *et al.*, 2021).

Além da luz, a temperatura também é um fator determinante na germinação das sementes de bromélias. A temperatura ideal pode variar entre espécies, mas a manutenção de um ambiente controlado e adequado pode aumentar as taxas de germinação e promover um desenvolvimento saudável das plântulas. A interação entre luz e temperatura deve ser cuidadosamente considerada para desenvolver protocolos eficientes de propagação e conservação das bromélias (SOUZA, SOUZA, PÁDUA, FERREIRA, 2017).

A preservação da rica biodiversidade das bromélias depende do entendimento desses fatores ambientais e da aplicação de técnicas adequadas para maximizar a germinação e o crescimento das plântulas. Portanto, a pesquisa contínua e o desenvolvimento de novas abordagens são essenciais para garantir a sobrevivência dessas espécies e sua integração sustentável em diversos ecossistemas.

4.0 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo demonstram que a temperatura e a luminosidade influenciam significativamente a germinação de sementes de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. A temperatura ideal de 25°C, combinada com a iluminação LED branca,

proporcionou as melhores condições para a germinação rápida, uniforme e com menor incidência de doenças fúngicas.

A variedade vermelha apresentou maior sensibilidade à luz azul-vermelha, enquanto a variedade roxa foi mais responsiva à luz branca. O fotoperíodo de 16 horas de luz por dia foi ideal para a germinação de ambas as variedades.

Essas informações podem ser utilizadas para otimizar o processo de produção de mudas de curauá, aumentando a produtividade e a qualidade das mudas, além de reduzir perdas por doenças fúngicas. Este estudo serve como um ponto de partida para novas investigações que aprofundarão nossa compreensão do processo de germinação. Sugerem-se estudos futuros para:

Explorar a resposta à temperatura e luminosidade em outras variedades de *Ananas comosus erectifolius* e *Ananas comosus bracteatus*; desvendar os mecanismos fisiológicos subjacentes à germinação; testar outras técnicas para otimizar o processo germinativo que podem abrir novas fronteiras para a produção eficiente de mudas.

5.0 REFERÊNCIAS

- ABUD, J. S., LIMA, A. A., SILVA, T. G., & GOMES, A. M. (2013). **Germinação de sementes de *Cereus jamacaru* DC. sob diferentes temperaturas e fotoperíodos.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 15(1), 127-132.
- ALELO. (2023) Available at: <<https://alelo.cenargen.embrapa.br/>>. Accessed on: August 29th 2023.
- ALMEIDA, F. S. *et al.* (2022) **Germinação de *Ananas comosus* sob diferentes espectros de luz.** Advances in Plant Biology, v. 11, n. 2, p. 62-70, 2022.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. (2013) **Sementes: Fisiologia do Desenvolvimento, Germinação e Dormência.** 3ª ed., Springer, Nova York, 2013. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4>
- CAROLLO, E. M.; FILHO, H. P. S. (2016) **Manual básico de técnicas fitopatológicas. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura**, 2016. Brazilian ornamental phytogenetic resources in Embrapa germplasm banks: obstacles and opportunities.
- CARVALHO, D.; ROSSATTO, L.; DAVIDE, A. C. (2014) **Effect of light quality on seed germination and initial seedling development of six vegetable species.** Scientia Horticulturae, 2014.
- CASTRO, A. C. R. de. *et al.* (2022) **Ornamental Horticulture (Ornam. Hortic.)** V. 28, No. 4, 2022 p. 396-406
- CHEN, Y. *et al.* (2019) **UV-protective activities of pineapple leaf extract in zebrafish embryos.** Research on Chemical Intermediates, v. 45, p. 65-75, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11164-018-3632-5>

- CORDEIRO, I. M. *et al.* (2019) **Initial growth of curauá and paricá under the application of curauá's vegetal extract.** Revista Verde, v. 14, n. 4, p. 586-590, 2019. Doi: 10.18378/rvads.v14i4.6515.
- COSTA, M. E. *et al.* (2021) **Efeitos comparativos da luz branca e azul-vermelha na germinação de *Ananas comosus*.** Botanical Studies, v. 17, n. 4, p. 85-93, 2021.
- CRESTANII. Maraisa; BARBIERII. Rosa Lia; HAWERROTH. Fernando José; CARVALHO. Fernando Irajá Félix de; OLIVEIRA. Antonio Costa de. From the Americas to the World - **origin, domestication and dispersion of pineapple.** Ciência Rural, Santa Maria, v.40, n.6, p.1473-1483, jun, 2010 ISSN 0103-8478
- DUARTE, E. F. *et al.* (2023) **Diversidade de frutos e sementes em fitofisionomias de Cerrado e suas implicações para a conservação na Serra Dourada, Goiás, Brasil.** Sitientibus série Ciências Biológicas, 2023. DOI: 10.13102/scb9547.
- FERREIRA, T. R. *et al.* (2023) **Resposta da germinação de *Ananas comosus* à iluminação LED.** Journal of Agricultural Science, v. 20, n. 5, p. 112-120, 2023.
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture.** 2nd ed. Dordrecht: Springer, 2008.
- GOMEZ, K. A.; GOMEZ, A. A. **Statistical procedures for agricultural research.** 2nd ed. New York: Wiley, 1984.
- GOUDA, E. J.; BUTCHER, D. **A list of accepted Bromeliaceae names [online].** Utrecht University Botanic Gardens, 2022. Available from: .
- HAI SGHAIER A, *et al.* (2022) **The Effects of Temperature and Water on the Seed Germination and Seedling Development of Rapeseed (*Brassica napus* L.).** Plants (Basel). 2022 Oct 23;11(21):2819. doi: 10.3390/plants11212819. PMID: 36365272; PMCID: PMC9654111.
- HARTMANN, H. T. *et al.* **Hartmann & Kester's plant propagation: principles and practices.** 8th ed. Boston: Prentice Hall, 2011.
- JUNGHANS. T. G.*et al.* (2015) **Seed germination of three pineapple progenies in different temperature regimes.** PERSPECTIVA, Erechim. v. 39, n.147, p. 61-67, setembro/2015
- KARGUTKAR, S.; BRIJESH, S (2018). **Anti-inflammatory evaluation and characterization of leaf extract of *Ananas comosus*.** Inflammopharmacology, v. 26, n. 2, p. 469–477, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10787-017-0379-3>
- LAZZARINI, L. E. S. *et al.* (2017) **Uso de diodos emissores de luz (LED) na fisiologia de plantas cultivadas – Revisão.** Scientia Agraria Paranaensis, v. 16, n. 2, p. 137–144, 2018.
- LEMOS, E. E. P. DE *et al.* (2002) **Fisiologia Vegetal.** Pesq. agropec. bras., Brasília, v. 37, n. 10, p. 1359-1364, out., 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2002001000002>
- LIDUEÑA-PERÉZ, K. I. *et al.* (2024) ***Ananas ananassoides* (Baker) L.B.Sm. a bromeliad from the savanna: seed morpho-anatomy and histochemistry.** Brazilian Journal of Biology, v. 84, e259454, 2024. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.259454>
- LIMA, A. P. P. S.; BRITO, A. L.; SANTANA, J. R. F. de (2020). **Micropropagation of Chapada Diamantina ornamental bromeliad.** Ciência Rural, Santa Maria, v.50:2, e20180922, 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180922>

- LIMA, G. H. *et al.* (2019) **Análise da germinação de sementes de *Ananas comosus* sob diferentes condições de luz.** Plant Biotechnology Reports, v. 9, n. 2, p. 76-84, 2019.
- LIN, D. *et al.* (2023) **The Synergistic Mechanism of Photosynthesis and Antioxidant Metabolism between the Green and White Tissues of *Ananas comosus* var. *bracteatus* Chimeric Leaves.** Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 9238. <https://doi.org/10.3390/ijms24119238>
- MAO, M. *et al.* (2020) **Systematic identification and comparative analysis of lysine succinylation between the green and white parts of chimeric leaves of *Ananas comosus* var. *bracteatus*.** BMC Genom. 2020, 21, 383.
- MARCOS-FILHO, J *et al.*, (2010). **Germinação de sementes de curauá (*Ananas comosus* (L.) Merr.) sob diferentes temperaturas e luminosidades.** Revista Brasileira de Sementes, 32(4), 590-597
- MARTIN, C.E. **Physiological ecology of the Bromeliaceae.** Bot. Rev. 1994, 60, 1–82.
- MARTINS, L. P. *et al.* (2018) **Efeitos da luz LED na germinação de *Ananas comosus*.** Biotechnology Advances, v. 14, n. 1, p. 45-53, 2018.
- MATYSIAK, B.; KOWALSKI, A. **White, blue and red LED lighting on growth, morphology and accumulation of flavonoid compounds in leafy greens.** Zemdirbyste-Agriculture, v. 106, n. 3, p. 281–286, 2019.
- MASSA, G. A. *et. al.* (2008). **Influência da luz azul na germinação de sementes de curauá (*Ananas comosus* (L.) Merr.).** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 10(1), 43-46.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. **A revised for rapid grow and bioassays with tobacco tissue culture.** Physiologia Plantarum, Kobenhavn, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NASSER, N. P. A. *et al.*(2019) **Germinação de sementes de *Bromelia antiacantha* em diferentes fotoperíodos.** Rev. Elet. Cient. da UERGS, v. 5, n. 3, p. 296-301, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.21674/2448-0479.53.296-301>
- OLIVEIRA, R. F. *et al.* **Comparação entre diferentes espectros de luz na germinação de *Ananas comosus*.** Journal of Plant Biotechnology, v. 12, n. 4, p. 89-97, 2019.
- PEREIRA, A. C. *et al.*(2020) **Influência da luz azul-vermelha na germinação de *Ananas comosus*.** Plant Research Journal, v. 13, n. 6, p. 101-109, 2020.
- PRADHAN, S., BANDYOPADHYAY, S., & PATHAK, D. (2011). **Effect of temperature and light on seed germination and seedling growth of three medicinal plants.** Journal of Medicinal Plants Research, 5(18), 4640-4647.
- RANAL, M. A.; FERREIRA, W. R.(2023) **Medidas de germinação de sementes e emergência de plântulas de espécies nativas brasileiras.** Pesquisa Florestal Brasileira, v. 43, 2023. DOI: 10.4336/2023.pfb.43e202002166.
- SANTANA, B. J. G. *et al.* (2020) **Processos pré-germinativos: métodos para superação de dormência em sementes da mata atlântica.** Editora Uniedusul, 2020. DOI: 10.29327/514958-4.
- SANTOS. E. R. dos; MELLO. A. H. de. (2013) **Recuperação de áreas impactadas pela extração de argila através da produção de mudas de espécies arbóreas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares.** Agroecossistemas, v. 1, n. 1, p. 18-18.

- SHROPSHIRE, J.; WOCHOTZKI, R. J.; ZURBRIGGEN, H. D. (2012) **Photoreceptors in plants and fungi**. Annual Review of Plant Biology, v. 63, p. 515-541, 2012.
- SILVA, E. M.; GOMES-JUNIOR, R. A.; MELO, J. N. (2012) **Germination of *Vriesea splendens* (Bromeliaceae) seeds under different light and temperature conditions**. Acta Botanica Brasilica, 2012.
- SILVA, I. V.; SCATENA, V. L. **Seed morphology and early seedling stages in Bromeliaceae from the Amazon**. Rodriguésia, v. 62, n. 2, p. 263-272, 2011. <http://rodriguesia.jbrj.gov.br>.
- SILVA, K. R. *et al.* (2020) **Seed development and its relationship to fruit structure in species of Bromelioideae (Bromeliaceae) with fleshy fruits**. Botanical Journal of the Linnean Society, v. 192, n. 4, p. 868-886, 2020. <http://dx.doi.org/10.1093/botlinnean/boz111>.
- SILVEIRA, F. A. O.; SANTOS, J. C.; FERNANDES, G. W. **Seed germination ecophysiology of the wild pineapple, *Ananas ananassoides* (Baker) L.B.Sm. (Bromeliaceae)**. Acta Botanica Brasilica, v. 24, n. 4, p. 1100–1103, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062010000400026>
- SMITH, R. D. **Light quality and plant growth**. In Photomorphogenesis in Plants (pp. 201-223). Springer, Cham, 2017.
- SOUZA, M. C. *et al.* (2021) **Estudo da germinação de sementes de *Ananas comosus* sob condições controladas de luz**. Plant Science Journal, v. 18, n. 3, p. 75-83, 2021.
- SOUZA, E.H. *et al.* (2017) **Pollen morphology and viability in Bromeliaceae**. Anais da Academia Brasileira de Ciencias, v.89, n.4, p.3067-3082, 2017a. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201720170450>
- SOUZA, F. V. D.; SOUZA, E. H.; PÁDUA, T. R. P.; FERREIRA, F. R.(2017) **Abacaxizeiros (*Ananas spp.*)**. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), 2017.
- VIEIRA, B. C.; SILVEIRA, F. A. O. **Reproductive phenology, seed germination and *ex situ* conservation of *Pseudananas sagenarius* in a semi-deciduous tropical forest fragment**. Plant Species Biology, v. 25, p. 214-220, 2010.
- VÁSQUEZ-JIMÉNEZ, J. *et al.* **Optimizing agronomic practices for pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr. ‘MD-2’ cultivar) production based on growth stages**. Fruts, v. 78, n. 3, 2023.
- WANG, J.; GAO, H.; GUO, Z.; MENG, Y.; YANG, M.; LI, X.; YANG, Q. **Adaptation responses in C4 photosynthesis of sweet maize (*Zea mays* L.) exposed to nicosulfuron**. Ecotoxicol. Environ. Saf. 2021, 214, 112096.
- XUE, *et al.* (2019) **Comparative transcriptomic and proteomic analyses of the green and white parts of chimeric leaves in *Ananas comosus* var. *bracteatus***. PeerJ 2019, 7, e7261.
- YANG, W. *et al.* (2023) **Genome-Wide Identification and Characterization of R2R3-MYB Provide Insight into Anthocyanin Biosynthesis Regulation Mechanism of *Ananas comosus* var. *bracteatus***. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 3133. <https://doi.org/10.3390/ijms24043133>
- ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 5th ed., Upper Saddle River: Prentice Hall, 2010.

ZHU, L.; WANG, D.; SUN, J.; MU, Y.; PU, W.; MA, B.; REN, F.; YAN, W.; ZHANG, Z.; LI, G.; *et al.* **Phenotypic and proteomic characteristics of sorghum (*Sorghum bicolor*) albino lethal mutant sbe6-a1.** Plant Physiol. Biochem. 2019, 139, 400–410.

Capítulo 2- Cultivo *In Vitro* de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*: Influência da Iluminação no Desenvolvimento da Semente à Plântula.

Antonia Neidilê Ribeiro Munhoz

Doutoranda em Biotecnologia, PGBIOTEC-UFAM

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia no Amazonas-IFAM

Av. Sete de Setembro, 1975 - Centro, Manaus - AM, 69020-120

Email: neidile.munhoz@ifam.edu.br

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2706-1028>

Luiz Antonio Oliveira

Doutor em Ciências do Solo

Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Endereço: Av. André Araújo, 2936, Petrópolis, Manaus, CEP: 69067-375, Amazonas

Email: luiz.oliveira@inpa.gov.br

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2008-7292>

Daniel da Silva

Doutor em Biotecnologia e Biodiversidade

Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Endereço: Av. André Araújo, 2936, Petrópolis, Manaus, CEP: 69067-375, Amazonas

Email: daniel.silva@inpa.gov.br

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9217-4213>

Paulo de Tarso Barbosa Sampaio

Doutor em Ciências Florestais

Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Endereço: Av. André Araújo, 2936, Petrópolis, Manaus, CEP: 69067-375,

Email: sampaio@inpa.gov.br

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0254-7651>

RESUMO

O presente estudo investigou o efeito de diferentes espectros de luz (branca e azul-vermelho) no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* (curauá roxo) e *Ananas comosus* var. *bracteatus* (abacaxi vermelho). As plântulas foram cultivadas em meio MS sob fotoperíodo de 16 horas e temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. A biometria foi realizada a cada 10 dias, avaliando altura da planta, número de folhas, largura e comprimento da folha, comprimento e número de raízes. Os resultados demonstraram que a luz LED colorida (azul-vermelho) promoveu um maior crescimento em altura e desenvolvimento radicular em ambas as variedades, especialmente no *Ananas comosus erectifolius*. A luz LED branca, por sua vez, favoreceu o crescimento em altura do *Ananas comosus bracteatus* e o desenvolvimento foliar de ambas as variedades. A análise estatística (ANOVA e teste t) revelou diferenças significativas entre os

tratamentos para a maioria das variáveis analisadas. Os resultados sugerem que a escolha do espectro de luz pode ser uma ferramenta importante para otimizar o desenvolvimento *in vitro* de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, visando a produção de mudas com características desejáveis para fins ornamentais e industriais.

Palavras-chave: Micropropagação, LED, *Ananas comosus*, Bromeliaceae, Morfogênese.

ABSTRACT

This study investigated the effect of different light spectra (white and blue-red) on the *in vitro* development of *Ananas comosus* var. *erectifolius* (purple curaua) and *Ananas comosus* var. *bracteatus* (red pineapple) seedlings. The seedlings were grown in MS medium under a 16-hour photoperiod and a temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Biometrics were performed every 10 days, evaluating plant height, number of leaves, leaf width and length, root length and number. The results showed that colored LED light (blue-red) promoted greater height growth and root development in both varieties, especially in *Ananas comosus erectifolius*. White LED light, on the other hand, favored the height growth of *Ananas comosus bracteatus* and the foliar development of both varieties. Statistical analysis (ANOVA and t-test) revealed significant differences between treatments for most of the variables analyzed. The results suggest that the choice of light spectrum can be an important tool to optimize the *in vitro* development of *Ananas comosus* var. *erectifolius* and *Ananas comosus* var. *bracteatus*, aiming at the production of seedlings with desirable characteristics for ornamental and industrial purposes.

Keywords: Micropropagation, LED, *Ananas comosus*, Bromeliaceae, Morphogenesis

1.0 INTRODUÇÃO

O cultivo *in vitro* é uma técnica amplamente utilizada na biotecnologia vegetal, possibilitando a propagação, conservação e estudo de espécies vegetais em condições controladas. Este método assegura a produção de plantas com elevado padrão fitossanitário, essencial em um cenário de intensificação agrícola e mudanças climáticas. Além disso, o cultivo *in vitro* tem um papel fundamental na multiplicação de espécies ameaçadas, garantindo a manutenção de sua variabilidade genética e contribuindo para a conservação *ex situ* (MUNHOZ *et al.*, 2024).

Essa manutenção e conservação pode ser aplicada em espécies da família Bromeliaceae, como *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, que apresentam grande relevância biotecnológica devido à sua diversidade de aplicações. Essas variedades se destacam pela produção de fibras de alta qualidade e compostos bioativos, utilizados em indústrias têxteis, automotivas e farmacêuticas. O cultivo *in vitro* dessas espécies possibilita a propagação massiva, assegurando a qualidade e uniformidade das plantas, além de proporcionar condições ideais para a análise de características genéticas e fisiológicas. (PORTELA, 2023; LIU *et al.*, 2022).

A iluminação, como fator ambiental, tem demonstrado influência significativa no cultivo *in vitro* de *Ananas comosus*. Estudos recentes indicam que espectros de luz específicos podem melhorar taxas de germinação e desenvolvimento radicular, otimizando os protocolos de cultivo para fins comerciais e de conservação. Assim, a aplicação de tecnologias avançadas, como LEDs, no cultivo *in vitro* pode representar uma estratégia eficiente para o melhoramento genético e biotecnológico dessas variedades (ZHOU *et al.*, 2021; ADJEI *et al.*, 2021).

A iluminação é um dos fatores mais críticos para o desenvolvimento de plântulas *in vitro*. A luz regula processos fisiológicos essenciais, como a fotossíntese e a morfogênese, por meio da ação de fotorreceptores como fitocromos e criptocromos. Esses processos são influenciados por características como intensidade, qualidade espectral e fotoperíodo, que devem ser otimizados para maximizar o desenvolvimento vegetal sob condições controladas (LAZZARINI *et al.*, 2017).

Diferentes espectros de luz, como azul e vermelho, exercem papéis específicos no crescimento das plantas. A luz azul favorece a produção de clorofila e a abertura estomática, enquanto a luz vermelha otimiza a elongação de caules e a expansão foliar. A combinação de espectros tem sido utilizada para ajustar a fotomorfogênese e melhorar a eficiência de protocolos de micropropagação (MATYSIAK, KOWALSKI, 2019).

Para *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, essas variações de iluminação são especialmente relevantes. Estudos recentes indicam que a modulação da qualidade e intensidade da luz pode promover maior eficiência no desenvolvimento radicular e aéreo, com impacto direto na qualidade e vigor das plântulas produzidas (ZHOU *et al.*, 2021; ADJEI *et al.*, 2021).

A otimização das condições de cultivo *in vitro* para *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* é essencial, dado seu potencial ornamental e industrial. Essas variedades possuem características únicas, como fibras resistentes e compostos bioativos, amplamente utilizados nas indústrias têxtil e farmacêutica. A propagação eficiente dessas plantas por meio da micropropagação assegura o suprimento contínuo de material genético de qualidade, contribuindo para a conservação *ex situ* e mitigando os impactos do uso excessivo de plantas silvestres, promovendo práticas mais sustentáveis (MUNHOZ *et al.*, 2024; PORTELA, 2023).

A iluminação tem papel central no desenvolvimento *in vitro*, afetando processos como fotossíntese, elongação caulinar e formação radicular. O entendimento detalhado dos efeitos de diferentes espectros luminosos na germinação e regeneração das plântulas permite a formulação

de protocolos mais eficientes, maximizando a produtividade e qualidade das mudas produzidas. Tais avanços são fundamentais tanto para o cultivo em larga escala quanto para a conservação de germoplasma (ZHOU *et al.*, 2021).

Além disso, as descobertas geradas por este estudo podem beneficiar diretamente aplicações comerciais. O desenvolvimento de plântulas vigorosas e uniformes é um pré-requisito para a integração dessas variedades em sistemas produtivos voltados à bioeconomia. Tecnologias baseadas em iluminação controlada podem potencializar a produção de compostos de alto valor agregado, atendendo às demandas dos setores farmacêutico e de biotecnologia (MATYSIAK, KOWALSKI, 2019).

Apesar do avanço nos estudos sobre cultivo *in vitro* de espécies da família Bromeliaceae, há uma escassez de pesquisas que abordem de forma sistemática os efeitos da iluminação no desenvolvimento inicial de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e var. *bracteatus*. A literatura existente concentra-se principalmente em estágios mais avançados de desenvolvimento ou em outras espécies, deixando uma lacuna no entendimento das condições ideais de luz para a germinação e formação de plântulas (ADJEI *et al.*, 2021).

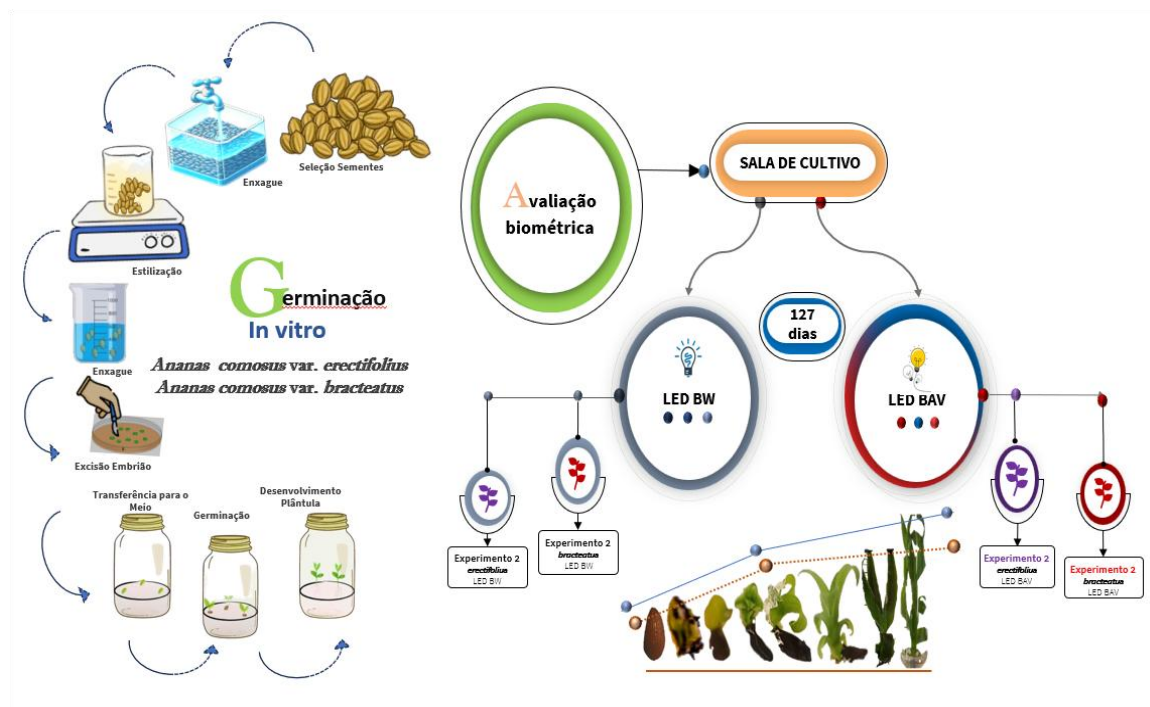
Estudos recentes têm explorado o impacto da luz em mecanismos metabólicos específicos, como em folhas químéricas de *Ananas comosus* var. *bracteatus* (Zhou *et al.*, 2021). No entanto, as interações entre espectros luminosos e os primeiros estágios de desenvolvimento em cultivo *in vitro* permanecem pouco compreendidas. Essa falta de conhecimento detalhado limita o potencial para otimização de protocolos que possam maximizar a eficiência de germinação e regeneração, uma necessidade crescente nas práticas de conservação e aplicação biotecnológica.

Dada a importância da iluminação na regulação de processos fisiológicos, como a fotossíntese e a morfogênese, é essencial estabelecer diretrizes baseadas em evidências sobre o uso de diferentes espectros e intensidades. Isso permitirá não apenas um melhor desempenho no cultivo *in vitro*, mas também um impacto positivo na bioeconomia, ao fornecer mudas de qualidade para aplicações industriais e comerciais (LAZZARINI *et al.*, 2017).

Diante desse contexto, o presente estudo visa investigar o efeito de diferentes espectros de luz LEDs, no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Espera-se que os resultados obtidos contribuam para a otimização dos protocolos de micropropagação, impulsionando a produção comercial dessas variedades e atendendo à crescente demanda do mercado por abacaxi ornamental de alta qualidade, assim como fibras e outros bioativos.

2.0 MATERIAL E MÉTODOS

Figura 1 – Avaliação Biométrica das plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Silvicultura e Tecnologia Digitais LASTED do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – INPA, Manaus, Amazonas. As culturas vegetais de *Ananas comosus* var. *erectifolius* (curauá roxo) e *Ananas comosus* var. *braqueatus* (abacaxi-vermelho) são provenientes do estabelecimento *in vitro* da fase I Germinação das sementes que foram mantidos em tubos de ensaio de 25x200 fechados com tampa de plástico com filtro, contendo 30 ml de meio de cultura MS sem reguladores sintéticos de crescimento (MURASHIGE; SKOOG, 1962).

O meio de cultura foi suplementado com 30g de sacarose e 7g de ágar. As culturas vegetais permaneceram durante todo o processo de crescimento e desenvolvimento *in vitro* iluminadas em duas diferentes fontes de luz: (I) branco - 100% de luz LED branco (420 nm); (II) azul-vermelho - 100% luz de LED azul-vermelho (460 nm) (660 nm). Os tratamentos às luminosidades permaneceram na mesma sala de crescimento e isolados para um não interferir no outro sendo mantidas sob fotoperíodo de 16 h, sendo a fonte luminosa mantida a uma distância de 40 cm acima das bancadas e temperatura ambiente de 25 ± 1 °C.

A biometria foi realizada a cada 10 dias para as variáveis Altura da Planta (AP), Número de Folhas (NF), Largura da Folha (LF), Comprimento da Folha (CF), Comprimento da Raíz (CR), Número das Raíz (NR) e Crescimento da Planta (CP), com auxílio de uma régua (15 cm).

Análise Estatística

Os dados coletados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk ($p = 0,05$) para verificar a adequação aos pressupostos estatísticos. Em seguida, as variáveis foram analisadas por meio de análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelos testes *t* (*Student*) e *Student-Newman-Keuls* (SNK) ($p > 0,05$).

As análises estatísticas foram realizadas no software BioEstat 5.8, e os gráficos de curva de crescimento foram gerados utilizando scripts Python 3.10 na plataforma Jupyter Notebook versão 7.0.8. Essa abordagem estatística robusta permitiu uma avaliação precisa da influência das variáveis estudadas no processo de germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*.

3.0 RESULTADOS

3.1. Taxa de Germinação das Sementes sob Diferentes Espectros de Luz

As plântulas resultantes deste estudo de germinação *in vitro*, conduzido sob luz LED Branco e luz LED Azul-Vermelho a uma temperatura constante de 25°C, evidenciam a influência da temperatura e luminosidade na germinação de sementes de curauá-roxo e abacaxi-vermelho. A temperatura ideal de 25°C, combinada com a iluminação LED Branca, proporcionou as melhores condições para a germinação rápida. Essas condições proporcionou as maiores taxas de germinação (88,97% para a *Ananas comosus* var. *erectifolius* e 98,95% para a *Ananas comosus* var. *bracteatus*) e menor tempo médio de germinação. No entanto, as plântulas obtiveram diferentes resultados tanto em luz Branca como em luz Azul-Vermelho como segue as análises biométrica (MUNHOZ *et al*, 2024).

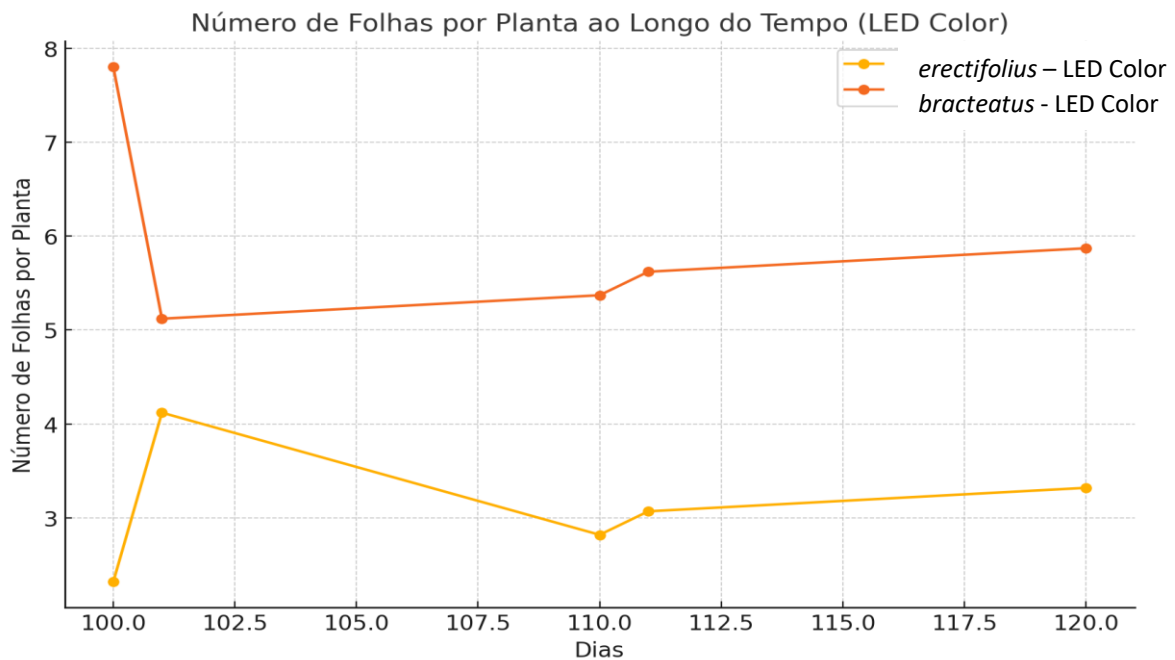
3.2. Análise da Biometria das Plântulas *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob Diferentes Condições de Luminosidade

3.2.1. Número de Folhas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob Diferentes Condições de Luminosidade

Número de Folhas (unidades)

A análise do gráfico de linhas para o número de folhas por planta ao longo do tempo, considerando as variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob luz LED Color ou Azul-Vermelho (Figura 2), apresenta as seguintes observações:

Figura 2. Curva de Desenvolvimento Foliar por Plântulas *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* luz LED Color (Azul-Vermelho)



Fonte: Elaborado pelo autor, 2024

Figura 3 – Curva de Crescimento explantes de *Ananas comosus* var. *erectifolius* em Led Color da germinação até 127 dias de cultivo



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

A variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius* demonstrou um padrão de crescimento foliar variável sob iluminação com a luz LED Color. Inicialmente, o número de folhas por planta apresentou oscilações, com uma redução para 2,82 folhas aos 120 dias, sugerindo uma interrupção temporária na taxa de desenvolvimento foliar.

Após esse período, observou-se uma recuperação gradual, com o número médio de folhas aumentando progressivamente, alcançando 3,32 aos 141 dias. Esse comportamento sugere que fatores externos ou internos, como alterações no microambiente ou respostas fisiológicas específicas, podem ter influenciado o crescimento foliar dessa variedade.

Figura 4. Curva de Crescimento explantes de *Ananas comosus* var. *bracteatus* em Led Color da germinação até 127 dias de cultivo



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

Esse padrão flutuante ressalta a importância de investigar as condições de cultivo, como intensidade luminosa e espectro da luz LED Color, para determinar sua adequação ao desenvolvimento consistente da *Ananas comosus* var. *erectifolius* em sistemas controlados. Estudos adicionais são necessários para compreender os fatores que limitam o crescimento linear e como otimizá-los para maximizar o potencial dessa planta.

A variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* (Figura 4) apresentou maior número médio de folhas por planta em comparação à variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius* durante todo o período avaliado, evidenciando uma maior capacidade de resposta ao LED colorido. Essa diferença sugere que a variedade *bracteatus* possui características fisiológicas mais adaptadas ao espectro luminoso utilizado.

Aos 100 dias, o número médio de folhas atingiu 7,8, o maior valor registrado para essa variedade no intervalo analisado. Contudo, observou-se uma redução para 5,12 folhas por planta aos 110 dias, indicando uma desaceleração no crescimento foliar. Esse comportamento pode ser interpretado como uma possível adaptação da planta ao ambiente de cultivo ou uma redistribuição de recursos fisiológicos.

Após esse período de declínio, houve uma recuperação gradual. O número médio de folhas aumentou continuamente, atingindo 5,87 aos 141 dias. Essa retomada de crescimento indica uma estabilização no desenvolvimento foliar, possivelmente associada à superação de fatores

limitantes presentes no início do experimento. Esse padrão de crescimento reforça a importância de estudos futuros para compreender os mecanismos que influenciam a resposta ao LED Azul-Vermelho e para identificar estratégias que otimizem o desempenho dessa variedade em sistemas controlados.

3.2.1.1 Comparação entre as variedades sob condições de luz LED Color ou Azul-Vermelho

A comparação entre as variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob iluminação LED Azul-Vermelho revela diferenças notáveis no desenvolvimento foliar. A variedade *bracteatus* manteve, ao longo de todo o período avaliado, um número médio de folhas por planta consistentemente superior ao da *Ananas comosus* var. *erectifolius*, indicando uma maior capacidade de resposta ao espectro luminoso utilizado.

Apesar das flutuações observadas em ambas as variedades, o padrão de crescimento de *Ananas comosus* var. *bracteatus* mostrou-se mais regular após um período inicial de instabilidade. Essa resposta sugere uma melhor adaptação às condições ambientais e ao regime de iluminação fornecido, favorecendo a retomada do crescimento após possíveis ajustes fisiológicos.

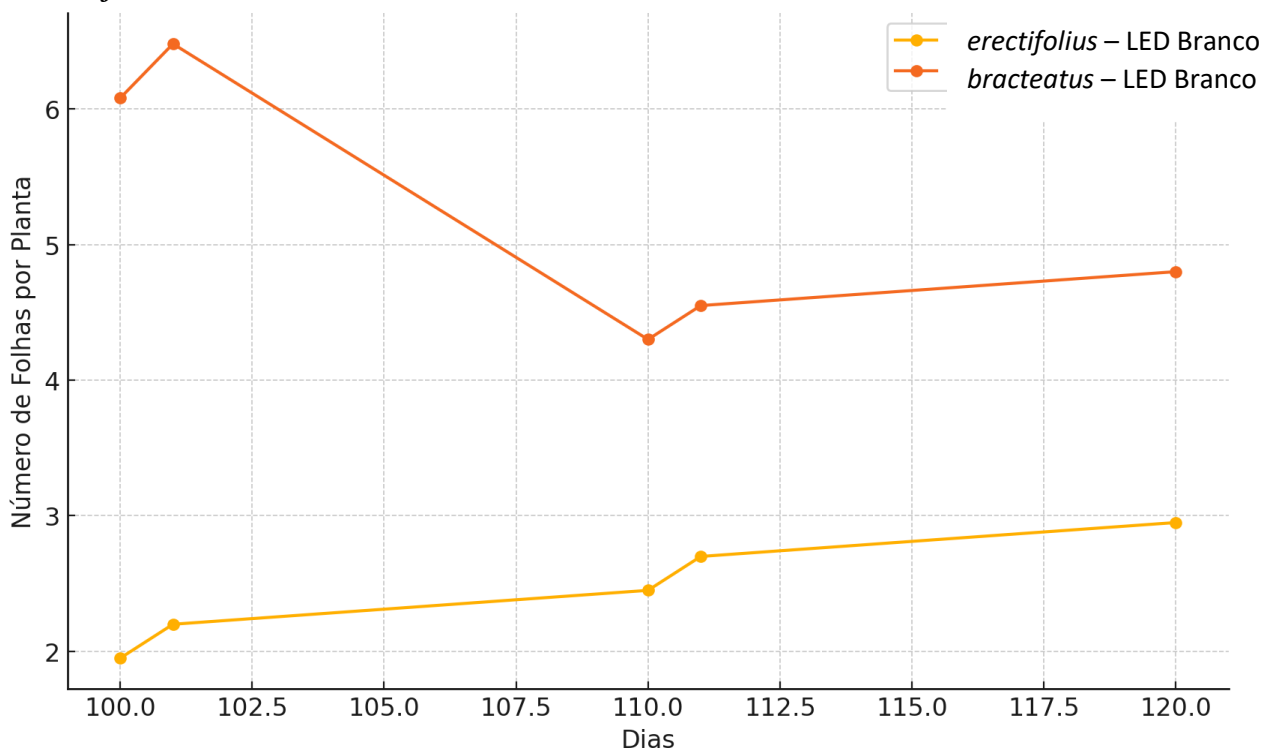
Por outro lado, a variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius* apresentou um padrão de crescimento mais modesto e menos robusto, com oscilações mais pronunciadas no número médio de folhas ao longo do tempo. Esses resultados destacam a diferença de desempenho entre as variedades e reforçam a necessidade de estratégias específicas para maximizar o potencial de *Ananas comosus* var. *erectifolius* em sistemas sob luz LED Azul-Vermelho, enquanto *Ananas comosus* var. *bracteatus* demonstra maior compatibilidade com as condições experimentais.

A análise do gráfico de linhas para o número de folhas por planta ao longo do tempo, considerando as variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob luz LED Branca, revela os seguintes aspectos:

a) *Ananas comosus* var. *erectifolius* apresentou um padrão de crescimento foliar caracterizado por um aumento progressivo no número médio de folhas por planta. Entre os dias 100 e 140 do experimento, a média de folhas por planta cresceu de 1,95 para 2,95, evidenciando uma trajetória ascendente ao longo do tempo.

Esse crescimento revelou-se estável e linear, conforme a análise da curva. O comportamento regular sugere que as condições de iluminação com LED Branco foram adequadas para sustentar o desenvolvimento foliar dessa variedade, promovendo um incremento constante no número de folhas.

Figura 5. Curva de Desenvolvimento Foliar por Plântulas *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* luz LED Branco



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

Embora tenha apresentado um crescimento consistente, o número médio de folhas por planta foi inferior ao observado na variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Isso aponta para uma resposta menos robusta de *Ananas comosus* var. *erectifolius* às condições de cultivo com LED branco, indicando que essa variedade possui menor potencial foliar sob as condições experimentais avaliadas. Esses dados reforçam a necessidade de explorar ajustes no ambiente de cultivo ou suplementação luminosa específica para otimizar o desempenho de *erectifolius*.

b) *Ananas comosus* var. *bracteatus* apresentou um padrão de crescimento foliar marcado por flutuações significativas durante o experimento. Inicialmente, o número médio de folhas por planta foi registrado em 6,08 aos 100 dias, com um ligeiro aumento para 6,48 no dia seguinte. No entanto, observou-se uma redução acentuada a partir desse ponto, culminando em 4,3 folhas por planta aos 120 dias. Esse declínio inicial sugere uma possível resposta adversa às condições ambientais ou de iluminação fornecidas.

Após o período de queda, foi constatada uma recuperação gradativa no número médio de folhas. Entre os dias 120 e 140, houve um aumento progressivo, alcançando 4,8 folhas por planta

ao final do período avaliado. Esse comportamento pode indicar um ajuste fisiológico tardio da planta às condições impostas, promovendo certa estabilização no padrão de crescimento.

O desenvolvimento não linear evidencia uma sensibilidade maior da variedade às características da luz LED branco. As flutuações observadas indicam que essa condição luminosa pode não ser a mais eficiente para otimizar o crescimento foliar de *Ananas comosus* var. *bracteatus*, possivelmente limitando sua capacidade de manter uma taxa constante de expansão foliar. Esse comportamento reforça a necessidade de estudos complementares para avaliar ajustes no espectro ou na intensidade luminosa com o objetivo de maximizar o desempenho dessa variedade em ambientes controlados.

c) Comparação dos Padrões de Crescimento Foliar entre *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius* sob condições de luminosidades.

Tabela 1. Comparação dos Padrões de Crescimento Foliar sob luz LED Color e luz LED Branco par número de folhas

Aspecto	LED Branco		LED Color (Azul-Vermelho)	
	<i>erectifolius</i>	<i>bracteatus</i>	<i>erectifolius</i>	<i>bracteatus</i>
Crescimento Inicial (100 dias)	Baixo (1,95 folhas por planta)	Alto (6,08 folhas por planta)	Moderado (2,32 folhas por planta)	Alto (7,8 folhas por planta)
Crescimento Final (140 dias)	Estável e moderado (2,95 folhas)	Flutuante e em declínio (4,8 folhas)	Gradual e leve aumento (3,32 folhas)	Estável após recuperação (5,87 folhas)
Padrão de Crescimento	Linear e constante	Flutuante com declínio seguido de recuperação	Flutuante e gradual	Flutuante com recuperação gradual
Crescimento Total (100-140 dias)	Aumento de 1 folha por planta	Redução de 1,28 folhas por planta	Aumento de 1 folha por planta	Redução de 1,93 folhas por planta

Resposta ao LED	Mais adaptada ao espectro branco	Sensível às condições, indicando menor eficiência	Responde bem, mas com oscilações	Maior compatibilidade com LED Color
-----------------	---	--	-------------------------------------	--

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

A análise da tabela comparativa entre *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob iluminação LED Branco e LED Color ou Azul-Vermelho oferece *insights* sobre os padrões de crescimento foliar e respostas às condições de cultivo. A seguir, descreve-se a análise detalhada dos resultados apresentados.

c.1) Crescimento Inicial (100 dias)

A variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* exibiu maior número médio de folhas por planta em ambas as condições de luz, indicando maior vigor inicial em relação à variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius*. Sob luz LED Branca, *Ananas comosus* var. *bracteatus* registrou 6,08 folhas por planta, enquanto *erectifolius* apresentou apenas 1,95 folhas. Sob luz LED Color, os valores iniciais também foram superiores para *Ananas comosus* var. *bracteatus* (7,8 folhas por planta) em comparação com *Ananas comosus* var. *erectifolius* (2,32 folhas). Esses dados sugerem que *Ananas comosus* var. *bracteatus* tem maior potencial de desenvolvimento inicial independentemente do espectro luminoso.

c.2) Crescimento Final (140 dias)

Sob luz LED Branca, o crescimento final foi mais consistente para *Ananas comosus* var. *erectifolius*, que alcançou 2,95 folhas por planta com um padrão linear e estável, indicando adaptação progressiva ao espectro luminoso. Por outro lado, *Ananas comosus* var. *bracteatus* apresentou um declínio no número de folhas, chegando a 4,8, o que reflete limitações na manutenção do desenvolvimento foliar ao longo do tempo sob essa condição.

Sob luz LED Color, ambas as variedades mostraram recuperação gradual após oscilações. *Ananas comosus* var. *bracteatus* estabilizou em 5,87 folhas por planta, enquanto *Ananas comosus* var. *erectifolius* alcançou 3,32 folhas. Esses resultados evidenciam que a luz LED Color favorece um crescimento foliar mais equilibrado, especialmente em *Ananas comosus* var. *bracteatus*, que parece mais compatível com as características desse espectro luminoso.

c.3 Padrão de Crescimento

O padrão de crescimento foliar de *Ananas comosus* var. *erectifolius* sob luz LED Branca foi linear e constante, refletindo uma adaptação lenta, porém consistente. Já sob LED Color, o crescimento foi flutuante, sugerindo sensibilidade a possíveis alterações nas condições de cultivo.

Por sua vez, *Ananas comosus* var. *bracteatus* apresentou maior instabilidade em ambos os tipos de luz. Sob luz LED Branca, exibiu um padrão flutuante com declínio seguido de recuperação, enquanto sob luz LED Color, mostrou um padrão similar, mas com uma recuperação mais efetiva. Essa resposta flutuante reforça a necessidade de ajustes no manejo de luz para garantir maior regularidade no desenvolvimento foliar.

a) Crescimento Total (100-140 dias)

Ananas comosus var. *erectifolius* apresentou aumento consistente no número de folhas em ambas as condições de luz, com 1 folha adicional por planta entre os dias 100 e 140. Esse comportamento destaca a sua capacidade de sustentar o crescimento ao longo do tempo.

Ananas comosus var. *bracteatus*, por outro lado, registrou uma redução no número total de folhas em ambas as condições. Sob luz LED Branca, a redução foi de 1,28 folhas por planta, enquanto sob luz LED Color a diminuição foi mais acentuada, com 1,93 folhas a menos. Esses resultados indicam que, apesar de apresentar maior número inicial de folhas, *Ananas comosus* var. *bracteatus* enfrenta dificuldades em manter o crescimento sob condições constantes.

b) Resposta a luz LED Branco e a luz LED Color ou Azul-Vermelho.

Sob luz LED Branca, *Ananas comosus* var. *erectifolius* demonstrou maior adaptação, indicando que esse espectro luminoso pode atender às necessidades fisiológicas dessa variedade de forma mais eficaz. Por outro lado, *Ananas comosus* var. *bracteatus* apresentou maior sensibilidade às condições, resultando em desempenho reduzido.

Sob luz LED Color ou Azul-Vermelho, ambas as variedades responderam positivamente, mas *Ananas comosus* var. *bracteatus* mostrou maior compatibilidade com essa condição, refletida em um maior número médio de folhas ao final do experimento. Entretanto, a flutuação no crescimento sugere que ajustes no regime de luz podem ser necessários para maximizar o desempenho.

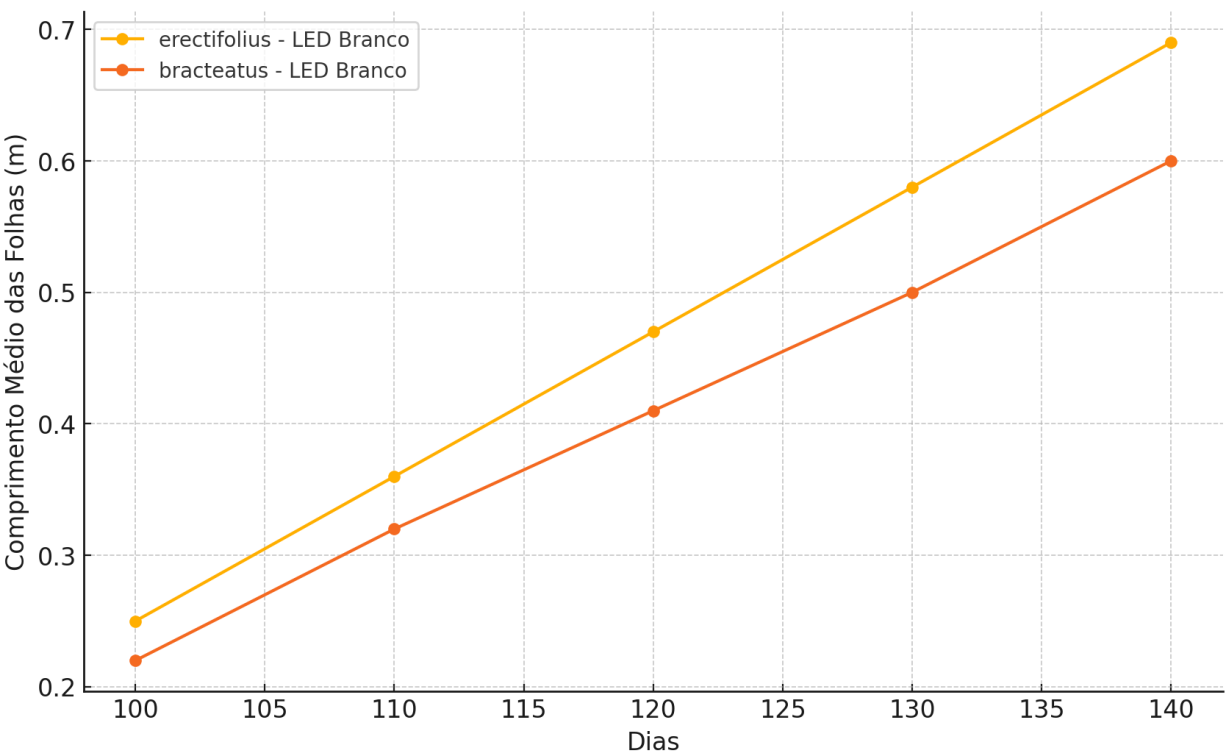
Em suma, os resultados indicam que a luz LED Azul-Vermelho apresenta vantagens no desenvolvimento foliar de ambas as variedades, com destaque para *Ananas comosus* var. *bracteatus*, que demonstra maior compatibilidade com esse espectro. Por outro lado, a luz LED

Branca mostrou-se mais adequado para *Ananas comosus* var. *erectifolius* favorecendo um padrão de crescimento linear e constante. A análise reforça a importância de considerar as características específicas de cada variedade para otimizar as condições de cultivo em sistemas controlados. Estudos futuros podem explorar a interação entre espectros luminosos, intensidade e duração da luz para maximizar o potencial de crescimento foliar em *Ananas comosus*.

3.2.2. Comprimento das Folhas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob Diferentes Condições de Luminosidade.

Conforme ilustrado na **Figura 6** e **Figura 7**, o comprimento foliar das plântulas de ambas as variedades aumentou de forma consistente ao longo do período de cultivo, com diferenças significativas entre os tratamentos de luz LED Branca e LED Color.

Figura 6. Comprimento médio das folhas por plântulas ao longo do tempo sob luz LED Branca de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Barra de escala em cm)



Fonte: Elaborado pelo Autor. 2024

A análise do gráfico: Comprimento médio das folhas por planta ao longo do tempo sob luz LED Branca

a) Desempenho da variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius*:

Ananas comosus var. *erectifolius* apresentou um crescimento linear ao longo do período avaliado (100 a 140 dias), com o comprimento médio das folhas por planta aumentando de 0,25 cm aos 100 dias para 0,69 cm aos 140 dias. Esse padrão de crescimento estável e constante sugere que a luz LED branca fornece um ambiente de cultivo adequado para a expansão foliar dessa variedade.

Apesar do padrão consistente, o comprimento médio das folhas foi inferior ao observado na variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus*, indicando que *Ananas comosus* var. *erectifolius* tem uma resposta menos vigorosa à luz branca em termos de alongamento foliar.

b) Desempenho da variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus*:

A variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* também apresentou um crescimento progressivo, com o comprimento médio das folhas aumentando de 0,22 cm aos 100 dias para 0,60 cm aos 140 dias. O padrão de crescimento foi linear, porém a taxa de aumento foi ligeiramente menor que a de *Ananas comosus* var. *erectifolius*, resultando em um comprimento final inferior.

Esses resultados sugerem que *Ananas comosus* var. *bracteatus* responde a luz LED Branca de forma eficiente, mas com menor intensidade em relação ao crescimento foliar observado em outras condições de luz, como a luz LED Color.

Na análise do gráfico de Comprimento médio da folha maior por planta ao longo do tempo sob luz LED Color

a) Desempenho da variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius*:

A *Ananas comosus* var. *erectifolius* apresentou um crescimento consistente ao longo do tempo, com o comprimento médio das folhas por planta aumentando de 0,26 cm aos 100 dias para 0,87 cm aos 140 dias.

O padrão de crescimento foi linear, mas a taxa de alongamento foliar foi significativamente maior do que sob luz LED Branca. Esse aumento no comprimento médio sugere que o LED Color, com ênfase nas regiões azul e vermelha do espectro, estimulou de forma eficiente o alongamento celular.

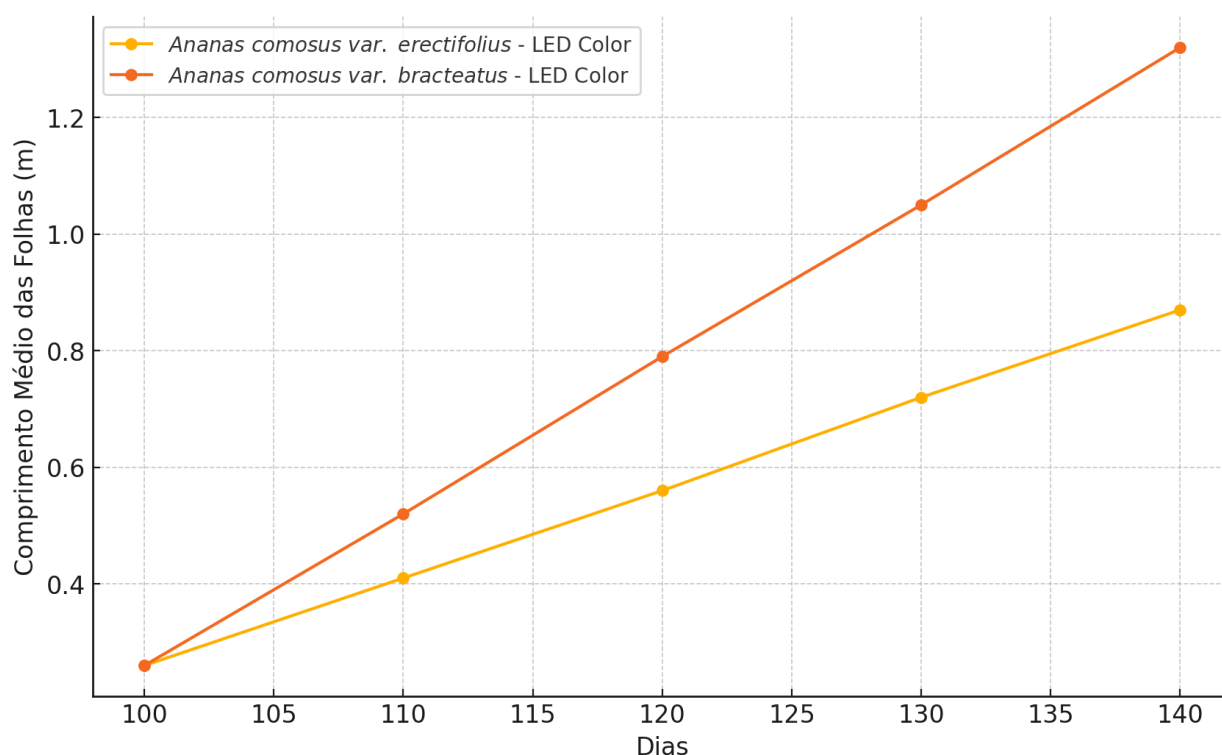
Apesar do bom desempenho, o comprimento foliar de *Ananas comosus* var. *erectifolius* ainda foi inferior ao observado na variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob a mesma condição.

b) Desempenho da variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus*:

A variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* demonstrou uma resposta mais vigorosa a luz LED Color, com o comprimento médio das folhas aumentando de 0,26 cm aos 100 dias para 1,32 cm aos 140 dias. A taxa de crescimento foi notavelmente superior à de *Ananas comosus* var. *erectifolius*, indicando uma maior sensibilidade de *bracteatus* aos efeitos da luz azul e vermelha, que estimulam o alongamento celular e a síntese de auxinas.

Esse desempenho robusto destaca *Ananas comosus* var. *bracteatus* como mais compatível com as características espectrais da luz LED Color, permitindo maior potencial de expansão foliar.

Figura 7 - Comprimento médio das folhas por planta ao longo do tempo sob luz LED Color (Azul-Vermelho) *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*



Fonte: Elaborado pelo Autor. 2024

c) **Comparação dos Padrões de Crescimento Foliar entre *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius* sob condições de luminosidades para comprimento de folha.**

Tabela 2. Comparação dos Padrões de Crescimento Foliar sob luz LED Color e LED Branco

Aspecto	LED Branco		LED Color (Azul-Vermelho)	
	<i>erectifolius</i>	<i>bracteatus</i>	<i>erectifolius</i>	<i>bracteatus</i>
Crescimento Inicial (100 dias)	Baixo (0,25 cm)	Alto (0,22 cm)	Moderado (0,26 cm)	Alto (0,26 cm)
Crescimento Final (140 dias)	Estável e moderado (0,69 cm)	Flutuante e em declínio (0,60 cm)	Gradual e leve aumento (0,87 cm)	Estável após recuperação (1,32 m)
Padrão de Crescimento	Linear e constante	Flutuante com declínio seguido de recuperação	Flutuante e gradual	Flutuante com recuperação gradual
Crescimento Total (100-140 dias)	Aumento de 0,44 cm	Redução de 0,32 cm	Aumento de 0,61 cm	Aumento de 1,06 cm
Resposta ao LED	Mais adaptada ao espectro branco	Sensível às condições, indicando menor eficiência	Responde bem, mas com oscilações	Maior compatibilidade com LED Color

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

c.1) Crescimento Inicial (100 dias)

A análise dos dados iniciais revela que a variedade *Ananas comosus var. bracteatus* apresentou maior comprimento foliar inicial em ambas as condições de iluminação, com 0,22 cm sob LED branco e 0,26 cm sob LED color. Em comparação, a variedade *Ananas comosus var. erectifolius* mostrou menor comprimento inicial: 0,25 cm sob LED branco e 0,26 cm sob LED color.

Esses resultados indicam que, no início do experimento, a variedade *Ananas comosus var. bracteatus* possui uma resposta inicial mais vigorosa, possivelmente devido à sua maior sensibilidade ao espectro luminoso.

c.2) Crescimento Final (140 dias)

Sob luz LED branca, o comprimento foliar final de *Ananas comosus var. erectifolius* foi de 0,69 cm, enquanto *Ananas comosus var. bracteatus* registrou apenas 0,60 cm, refletindo uma limitação maior de *bracteatus* para sustentar o crescimento nessa condição. Sob luz LED color,

ambas as variedades apresentaram comprimentos finais superiores, com *Ananas comosus* var. *bracteatus* alcançando 1,32 cm, enquanto *Ananas comosus* var. *erectifolius* atingiu 0,87 cm.

Esses resultados reforçam o papel da luz LED color em promover o alongamento foliar, especialmente em *Ananas comosus* var. *bracteatus*, que respondeu de forma mais expressiva, evidenciando compatibilidade superior com as características espectrais dessa condição.

c. 3) Padrão de Crescimento

Sob luz LED branca, o crescimento de *Ananas comosus* var. *erectifolius* foi linear e constante, sugerindo maior adaptação a essa condição luminosa. Em contraste, *Ananas comosus* var. *bracteatus* apresentou um padrão de crescimento flutuante, seguido de recuperação, indicando maior sensibilidade às limitações do espectro branco.

No caso da luz LED color, ambas as variedades exibiram padrões de crescimento flutuantes. Entretanto, *Ananas comosus* var. *bracteatus* demonstrou um comportamento de recuperação mais marcante, com taxas de crescimento mais elevadas após oscilações iniciais. O padrão mais gradual de *Ananas comosus* var. *erectifolius* sugere uma resposta consistente, embora menos expressiva.

c.4) Crescimento Total (100-140 dias)

Sob luz LED branca, *Ananas comosus* var. *erectifolius* apresentou um aumento total de 0,44 cm, enquanto *Ananas comosus* var. *bracteatus* registrou uma redução de 0,32 cm, reforçando que *Ananas comosus* var. *erectifolius* é mais eficiente sob espectros luminosos amplos. Sob LED color, o crescimento total foi superior em ambas as variedades, com *Ananas comosus* var. *bracteatus* mostrando um aumento de 1,06 cm e *Ananas comosus* var. *erectifolius* apresentando 0,61 cm.

Essa diferença demonstra que *Ananas comosus* var. *bracteatus* é mais responsiva ao LED color, possivelmente devido à influência das luzes azul e vermelha na regulação hormonal e no alongamento celular.

c.5) Resposta a luz LED Branca e a luz LED Color ou Azul-Vermelho

A resposta a luz LED Branca foi mais favorável para *Ananas comosus* var. *erectifolius*, que mostrou crescimento constante e adaptado, enquanto *Ananas comosus* var. *bracteatus* demonstrou maior sensibilidade, com desempenho mais limitado e padrões instáveis. Já sob luz LED color, ambas as variedades responderam positivamente, mas *Ananas comosus* var.

bracteatus mostrou maior compatibilidade, atingindo valores finais superiores e padrões de crescimento mais robustos.

Em síntese, a análise evidencia que a luz LED Branca é mais adequada para a variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius*, promovendo crescimento estável e consistente, enquanto apresenta limitações para *Ananas comosus* var. *bracteatus*, resultando em padrões de crescimento instáveis e menor eficiência. Por outro lado, a luz LED color mostrou-se vantajoso para ambas as variedades, especialmente para *Ananas comosus* var. *bracteatus*, que alcançou comprimentos foliares finais mais elevados e taxas de crescimento superiores.

Esses resultados destacam a importância de considerar as características fisiológicas específicas de cada variedade ao escolher o tipo de iluminação em sistemas de cultivo controlados. Experimentos futuros podem explorar a interação entre espectro luminoso e intensidade para otimizar o crescimento foliar de ambas as variedades.

3.2.3 Análise Detalhada da Largura das Folhas em Relação à Altura da Planta e Períodos de Cultivo

Os gráficos apresentados nas **Figuras 8A e 8B** oferecem uma visão clara da relação entre a largura das folhas e a altura das plantas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* ao longo de tempo de cultivo sob iluminação LED Color e LED Branco.

3.2.3.1. Altura por Plântula ao Longo do Tempo de Cultivo

A análise do gráfico revela que as plântulas cultivadas sob iluminação LED Color apresentaram uma altura média superior em comparação às submetidas a luz LED Branca em todos os intervalos avaliados. Esse comportamento indica uma maior eficiência da luz LED Color em promover o alongamento das plantas, possivelmente devido à predominância de comprimentos de onda azul e vermelho, conhecidos por estimular a síntese de auxinas e alongação celular.

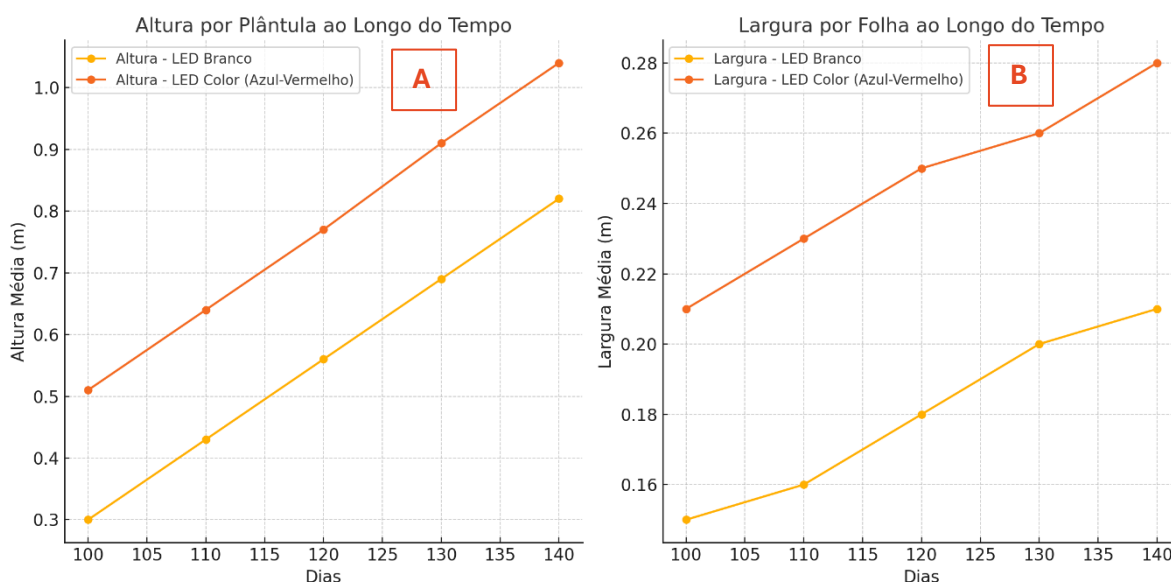
Embora ambas as condições de iluminação tenham demonstrado um crescimento linear ao longo do tempo, o impacto da luz LED Color foi mais evidente, resultando em valores médios de altura mais elevados. No entanto, a análise estatística (ANOVA) revelou que a diferença observada entre os dois tratamentos não alcançou significância estatística ao nível de 5% (F-Estatística: 2,648; p-Valor: 0,142). Esse resultado sugere que, apesar das variações, o crescimento em altura nas duas condições de iluminação foi comparável.

Esses dados destacam o potencial da luz LED Color em intensificar o alongamento das plântulas, mas também sugerem que a luz LED Branca oferece um suporte adequado para o crescimento vertical, apresentando resultados consistentes ao longo do experimento. Estudos

adicionais poderiam explorar variações de intensidade e duração da luz para elucidar as condições ideais para maximizar o crescimento em altura.

Figura 8. Gráfico ANOVA duas amostras Biometria Plântulas *Ananas comosus* var. *erectifolius* in vitro luz LED Branco e luz LED Color (Azul-Vermelho) e para Altura da Plântula (A);

Gráfico ANOVA duas amostras Biometria Plântulas *Ananas comosus* var. *erectifolius* in vitro Luz Led Branca e luz LED Color (Azul-Vermelho) para Largura da Folha (B).



- A **variável Altura** apresentou diferença entre dois tratamentos não alcançaram significância estatística ao nível de 5% (F-Estatística: 2,648; p-Valor: 0,142).
- A diferença na **variável largura** média das folhas entre os dois tratamentos é estatisticamente significativa ao nível de 5% (F-Estatística: 15,783; p-Valor: 0,004)

Fonte: Elaborado pelo Autor. 2024

3.2.3.2 Largura por Folha ao Longo do Tempo Cultivo

A análise do gráfico evidencia que as plântulas submetidas à iluminação LED Color apresentaram uma largura média das folhas consistentemente superior àquelas cultivadas sob luz LED Branca. A diferença entre os dois tratamentos se tornou mais evidente com o avanço do tempo de cultivo, refletindo a influência do espectro de luz azul e vermelha no estímulo à expansão celular.

A luz LED Color demonstrou maior eficiência na promoção da largura foliar, provavelmente devido à sua capacidade de intensificar processos fisiológicos como a divisão

celular e a fotossíntese. Esses mecanismos são frequentemente associados ao estímulo de fitohormônios, como as auxinas, que desempenham um papel central na expansão foliar.

A análise estatística por ANOVA (F-Estatística: 15,783; p-Valor: 0,004) revelou que a diferença na largura média das folhas entre os dois tratamentos é estatisticamente significativa ao nível de 5%. Isso reforça que a luz LED Color tem um impacto mais eficaz na promoção da largura das folhas, enquanto a luz LED Branca, embora adequado, apresenta limitações nesse aspecto.

Esses resultados destacam a vantagem da luz LED Color em sistemas de cultivo *in vitro* voltados para a otimização da área foliar, proporcionando maior biomassa e melhor qualidade morfológica das plântulas. A luz branca, por outro lado, pode ser mais indicada para condições em que um crescimento mais equilibrado entre largura e altura é desejado.

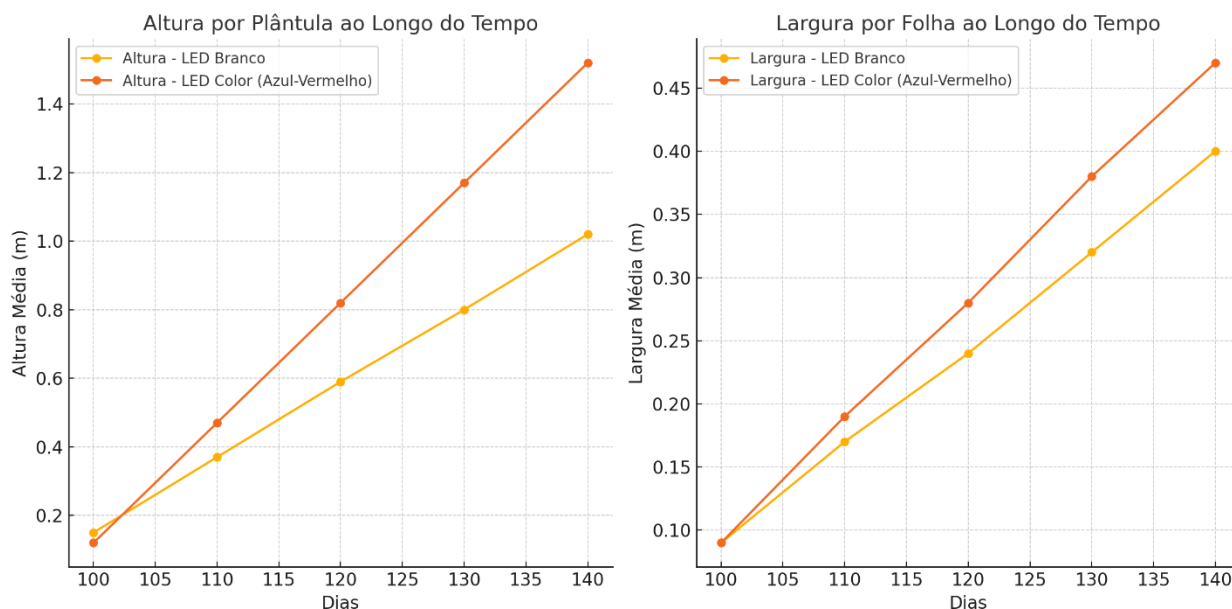
3.2.4 Altura das Plantas e Largura das Folhas de *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob Diferentes Condições de Luminosidade

3.2.4.1. Crescimento da Altura Foliar ao Longo do Período de Cultivo

Nas Figuras 10 e 11, observa-se o comportamento da largura foliar de *Ananas comosus* var. *bracteatus* ao longo do tempo de cultivo sob diferentes condições de luz (LED Branco e LED Color).

Figura 10. Biometria Plântulas *Ananas comosus* var. *bracteatus* *in vitro* luz LED Branco e luz LED Color (Azul-Vermelho) para Altura da Plântula.

Figura 11. Biometria Plântulas *Ananas comosus* var. *bracteatus* *in vitro* Luz Led Branca e luz LED Color (Azul-Vermelho) para Largura da Folha



- **Variável alturas médias das plântulas** sob os dois tratamentos, não há diferença estatisticamente significativa entre as ao nível de significância de 5% (F-Estatística de 0,646 e um p-Valor de 0,445)
- **Variável a largura média das folhas**, a ausência de diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos (F-Estatística foi 0,193 e o p-Valor 0,672)

3.2.4.2 Resultados dos Gráficos ANOVA duas amostras Biometria Plântulas *Ananas comosus* var. *bracteatus in vitro* luz LED Branca e luz LED Color (Azul-Vermelho) e para Altura e Largura da Plântula.

a) Altura por Plântula:

As plântulas cultivadas sob luz LED Color exibiram um crescimento mais rápido ao longo do tempo em comparação com aquelas submetidas a luz LED Branca. O padrão de crescimento foi linear em ambas as condições, com a luz LED Color apresentando valores de altura consistentemente maiores em todos os intervalos avaliados. No entanto, a diferença entre os dois tratamentos foi moderada, como indicado pelos resultados da análise ANOVA.

b) Largura por Folha:

A largura média das folhas aumentou de forma linear tanto sob luz LED Color quanto sob luz LED Branca. No entanto, os valores sob luz LED Color foram consistentemente superiores, indicando maior eficiência dessa iluminação na promoção da expansão foliar. Apesar disso, a diferença observada entre os tratamentos foi menos acentuada em comparação ao parâmetro de altura.

c) Resultados da ANOVA

c.1) Altura (LED Branco vs LED Color):

A análise estatística revelou uma F-Estatística de 0,646 e um p-Valor de 0,445, indicando que não há diferença estatisticamente significativa entre as alturas médias das plântulas sob os dois tratamentos ao nível de significância de 5%. Esse resultado sugere que, embora o LED Color tenha promovido maior altura média ao longo do tempo, a diferença em relação a luz LED Branca não é suficientemente robusta para ser considerada significativa.

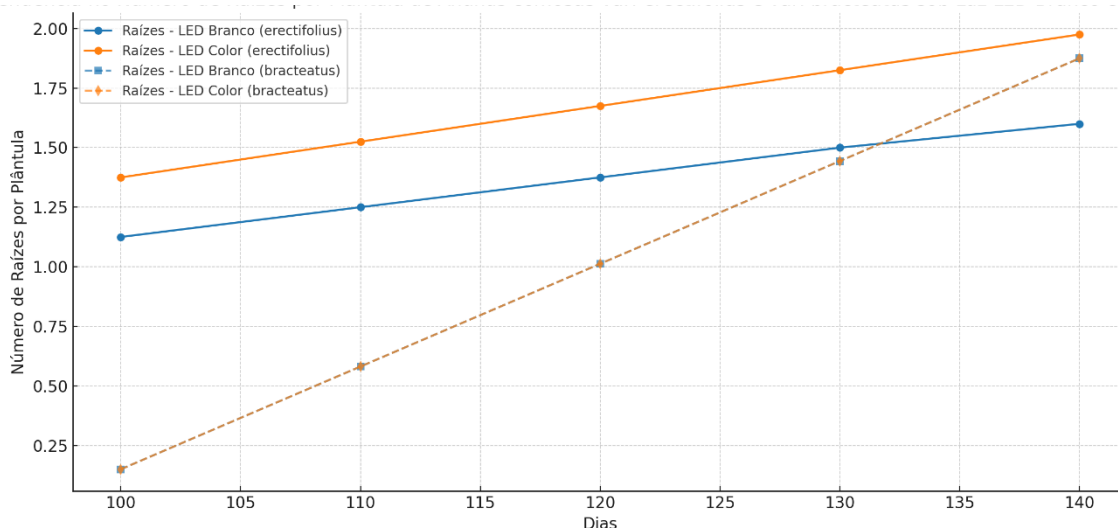
c.2) Largura (LED Branco vs LED Color):

Para a largura média das folhas, a F-Estatística foi 0,193 e o p-Valor 0,672, demonstrando novamente a ausência de diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos. Isso indica que, apesar da superioridade dos valores observados sob luz LED Color, as variações entre os dois tratamentos são pequenas e não diferem de forma significativa.

Esses resultados apontam que ambos os tipos de iluminação foram eficazes no suporte ao crescimento das plântulas, com diferenças não significativas estatisticamente para os parâmetros avaliados.

3.2.5 Número de Raízes de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob Condições de Luminosidade

Figura 12 – Curva de Desenvolvimento Radicular das Plântulas *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* in vitro Led Branco e luz LED Color (Azul-Vermelho) para Número das Raízes.



- *Ananas comosus* var. *erectifolius*: diferença moderada entre os tratamentos com LED Branco e LED Color (entre os tratamentos com LED Branco e LED Color (F-Estatística de 5,038 e um p-valor de 0,055);
- *Ananas comosus* var. *bracteatus*: não há diferença entre os tratamentos de LED Branco e LED Color (F-Estatística de 0,000 e um p-valor de 1,000)

Fonte: Elaborado pelo Autor. 2024

a) *Ananas comosus* var. *erectifolius*

Sob luz **LED Color**, o comportamento observado indica um aumento constante no número de raízes por plântula ao longo do período avaliado, destacando uma elevação mais acentuada em comparação a luz LED Branco. Essa tendência sugere que a luz LED Color apresenta maior eficiência na indução da proliferação radicular em *Ananas comosus* var. *erectifolius*, um efeito que pode estar associado à ação das luzes azul e vermelha no estímulo da divisão celular e na promoção de respostas fisiológicas favoráveis ao crescimento das raízes.

Sob luz **LED Branco**, o crescimento no número de raízes foi linear, com incrementos graduais ao longo do tempo. No entanto, os valores permaneceram inferiores aos registrados sob luz LED Color, indicando que, embora a luz LED Branco forneça condições estáveis para o

desenvolvimento radicular, seu efeito estimulante é menos pronunciado, especialmente em comparação a luz LED Color.

Integração entre os Tratamentos, a análise comparativa evidencia que a luz LED Color promove maior proliferação de raízes em *Ananas comosus* var. *erectifolius*, enquanto a luz LED Branco oferece suporte adequado, mas com menor capacidade de intensificar o crescimento radicular. Esses resultados reforçam a importância de ajustar o espectro luminoso conforme os objetivos específicos do cultivo, maximizando os benefícios associados à fisiologia da variedade.

b) *Ananas comosus* var. *bracteatus*

Sob luz **LED Color**, mostra a linha tracejada indica um crescimento constante e expressivo no número de raízes ao longo do tempo, alinhando-se ao padrão identificado para *Ananas comosus* var. *erectifolius*. A resposta a luz LED Color mostrou-se mais acentuada após os 120 dias de cultivo, o que sugere um efeito cumulativo do espectro luminoso azul-vermelho na proliferação radicular. Esse comportamento reforça o papel da luz LED Color na intensificação dos processos fisiológicos associados à formação de raízes, especialmente em fases avançadas do desenvolvimento.

Sob luz **LED Branco**, apresentou a tendência linear de crescimento foi semelhante à observada com LED Color, mas os valores permaneceram consistentemente inferiores. Essa diferença sugere que, embora o LED Branco proporcione condições estáveis para o desenvolvimento radicular, sua eficiência em promover a proliferação de raízes em *Ananas comosus* var. *bracteatus* é menor. A menor intensidade do espectro azul e vermelho na luz LED Branco pode limitar os estímulos relacionados à divisão celular e à iniciação radicular.

Integração entre os Tratamentos:

A análise comparativa entre os tratamentos destaca que a luz LED Color é mais eficaz para estimular a proliferação de raízes em *Ananas comosus* var. *bracteatus*, especialmente em períodos mais longos de cultivo. Por outro lado, a luz LED Branco, embora menos eficiente, ainda é uma opção viável para suportar o crescimento radicular de forma constante, mas com limitações na intensidade do desenvolvimento.

3.2.5.1 Resultados da ANOVA para o Número de Raízes sob diferentes condições de luminosidades:

a) *Ananas comosus* var. *erectifolius*

A análise ANOVA revelou uma **F-Estatística de 5,038** e um **p-valor de 0,055**, indicando uma diferença moderada no número de raízes entre os tratamentos com luz LED Branco e luz LED Color. No entanto, como o p-valor excede o limite de significância de 5% ($p < 0,05$), essa diferença

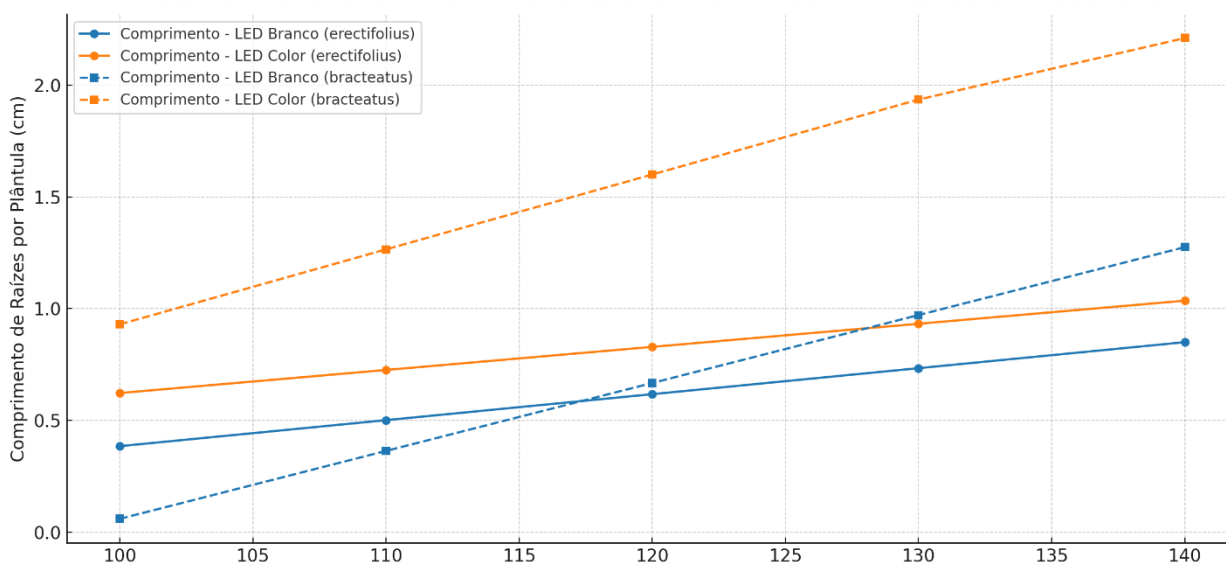
não pode ser considerada estatisticamente significativa. Esses resultados sugerem uma tendência de maior número de raízes sob LED Color, mas sem evidência robusta para confirmar a superioridade estatística do tratamento.

c) *Ananas comosus* var. *bracteatus*

Os resultados da ANOVA para *bracteatus* mostraram uma **F-Estatística de 0,000** e um **p-valor de 1,000**, evidenciando que não há diferença entre os tratamentos de LED Branco e LED Color em relação ao número de raízes. As médias de ambas as condições foram idênticas ao longo do período avaliado, indicando que os dois tipos de iluminação apresentam desempenho equivalente para esta variável nessa variedade.

3.2.6 Comprimento Radicular de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob Condições de Luminosidade.

Figura 13. Curva de Desenvolvimento Radicular das Plântulas *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* in vitro luz LED Branco e LED Color (Azul-Vermelho) para variável Comprimento das Raízes



Fonte: Elaborado pelo Autor. 2024

3.2.6.1 Análise Integrada: Relação entre Crescimento Aéreo e Radicular sob Diferentes Condições de Iluminação das plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*.

A integração das variáveis de altura e comprimento radicular por plântula oferece uma perspectiva abrangente sobre a interação entre o crescimento aéreo e radicular em *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob luz LED Branco e LED Color. Essa abordagem permite identificar como os espectros luminosos influenciam o desenvolvimento coordenado das partes aéreas e subterrâneas.

a) *Ananas comosus* var. *erectifolius*:

LED Color:

Sob luz LED Color, tanto o comprimento radicular quanto a altura das plântulas apresentaram incrementos significativos ao longo do tempo. O crescimento radicular foi proporcional ao crescimento aéreo, sugerindo uma sinergia entre as respostas das duas partes da planta. A luz azul e vermelha, presente nesse tratamento, estimula a fotossíntese e a produção de auxinas, beneficiando o desenvolvimento das raízes e o alongamento do caule.

Por isso, observa-se que a altura média aumentou de 0,51 cm (100 dias) para 1,04 cm (140 dias), acompanhada por um incremento no comprimento radicular de 0,6225 cm (100 dias) para 1,0355 cm (140 dias). Enquanto, a proporcionalidade entre as variáveis aéreas e radiculares sob luz LED Color sugere que esse tratamento otimiza o transporte de nutrientes e água, promovendo um crescimento balanceado.

LED Branco:

No tratamento com a luz LED Branca, o crescimento radicular foi mais modesto, enquanto a altura apresentou um padrão semelhante, embora com valores inferiores aos observados na luz LED Color. Isso reflete uma menor eficiência da luz LED Branca em estimular a elongação celular.

Sob luz LED Branca, revelou que a altura aumentou de 0,30 cm (100 dias) para 0,82 cm (140 dias), enquanto o comprimento radicular passou de 0,385 cm (100 dias) para 0,85 cm (140 dias). Apesar disso, o crescimento radicular acompanhou o padrão linear da altura, indicando que a luz LED Branca fornece suporte estável, mas com menor intensidade para a coordenação entre os crescimentos aéreo e radicular.

b) *Ananas comosus* var. *bracteatus*:

LED Color:

Para *Ananas comosus* var. *bracteatus*, o LED Color mostrou maior eficiência em promover alongação tanto aérea quanto radicular. O comprimento das raízes cresceu de forma mais acentuada em comparação à altura, especialmente nos estágios finais, indicando que essa variedade prioriza o desenvolvimento radicular sob condições favoráveis.

- A altura aumentou de 0,12 cm (100 dias) para 1,52 cm (140 dias), enquanto o comprimento radicular teve um incremento mais expressivo, de 0,93 cm (100 dias) para 2,21 cm (140 dias).
- A maior relação entre comprimento radicular e altura sugere uma estratégia fisiológica de *Ananas comosus* var. *bracteatus* para maximizar a absorção de nutrientes e água, garantindo suporte ao crescimento aéreo intensificado pela luz LED Color.

LED Branco:

Sob luz LED Branca, o padrão de crescimento foi menos expressivo. A altura e o comprimento radicular cresceram de maneira linear e proporcional, mas com valores inferiores a luz LED Color. Isso reflete uma menor capacidade da luz LED Branca em estimular processos metabólicos essenciais para alongação.

- A altura aumentou de 0,15 cm (100 dias) para 1,02 cm (140 dias), enquanto o comprimento radicular passou de 0,06 cm (100 dias) para 1,275 cm (140 dias).
- Apesar do crescimento constante, a menor alongação radicular sugere que a luz LED Branco oferece condições mais adequadas para suportar, mas não intensificar, o crescimento.

3.2.6.2 Relação Geral entre Crescimento Aéreo e Radicular das plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob condições de iluminações.

- Sob luz LED Color, ambas as variedades apresentaram uma relação mais equilibrada e intensificada entre crescimento aéreo e radicular, destacando o papel das luzes azul e vermelha na otimização metabólica e na coordenação entre as partes da planta. A luz LED Color promove alongação eficiente em ambas as variáveis, potencializando a área foliar e o sistema radicular para suportar as demandas metabólicas.
- Sob luz LED Branca, o padrão de crescimento linear sugere que o desenvolvimento aéreo e radicular ocorre de forma constante e menos intensificada, refletindo uma menor eficiência desse espectro em estimular as respostas fisiológicas que integram esses processos.

Os resultados demonstram que a luz LED Color é a opção mais indicada para promover um crescimento coordenado e eficiente entre os sistemas aéreo e radicular, especialmente para cultivos que demandam maior alongação e absorção de nutrientes. Por outro lado, a luz LED Branca, com suporte constante, seria mais adequada para aplicações que exigem menos intensidade nos incrementos biométricos. A relação entre as duas variáveis destaca a importância de um manejo adequado do espectro luminoso conforme as demandas específicas de cada fase e variedade.

3.2.7 Análise de Variância

Tabela 3. t-Teste Amostras independentes Biometria de Plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* in vitro em luz Led Branca e luz Led Color

	Temperatura	Fotoperíodo 16h (in vitro)							
		Crescimento Planta		Altura Planta		Número Folhas		Comprimento Folha	
		LBW	LBAV	LBW	LBAV	LBW	LBAV	LBW	LBAV
Plântulas <i>Ananas comosus erectifolius</i> (PAE)	25°C	0,30 Aa	0.51aA	0.82Aa	1.04Aa	2.95Aa	3.92Aa	0.69aAb	0.87ab
Plântulas <i>Ananas comosus bracteatus</i> (PAB)		0.15Bb	0.12Ba	1.02Ba	1.52Ba	2.95Ba	5.84Ba	0.60ab	1.32ab
¹ DMS/PAE(LBW/LBAV)		0.21		0.22		0.37		0.18	
² DMS/PAB(LBW/LBAV)		-0.03		0.50		2.92		0.72	
¹ V/PAE(LBW/LBAV)		0.21		0.22		0.37		0.18	
² V/PAB(LBW/LBAV)		0.03		0.50		2.92		0.72	

*Médias seguidas de mesma letra minúsculas, diferem entre si pelo t-Test ($p < 0,05$).

*Médias seguidas de mesma letra maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pela variância t-Test.

Diferença entre Médias (PAE)= aA / Diferença entre Médias (PAB)=bB

A análise de variância (Tabela 1) destaca diferenças significativas nas variáveis "altura da planta", "número de folhas" e "comprimento das folhas" entre as variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, cultivadas sob luz LED branca (LBW) e LED colorida azul-vermelho (LBAV). Essas comparações quantitativas e qualitativas ajudam a

compreender como cada condição luminosa influencia o crescimento e desenvolvimento das plântulas.

a) Crescimento em Altura

A altura das plantas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* foi maior sob luz LED Color (1,04 cm) em comparação com a luz LED Branca (0,82 cm). Essa diferença ($DMS = +0,22$; $V = 0,22$) evidencia que a luz LED Color, com sua composição espectral baseada em luz azul e vermelha, proporciona uma estimulação mais eficiente do alongamento celular. Esse efeito é associado ao aumento da síntese e distribuição de auxinas, hormônios que regulam o crescimento vertical da planta. A presença de comprimentos de onda azul-vermelho estimula a fotossíntese e ativa rotas metabólicas relacionadas ao crescimento aéreo, especialmente em cultivos *in vitro*.

Para *Ananas comosus* var. *bracteatus*, a altura também foi maior sob luz LED Color (1,52 cm) em comparação a luz LED Branca (1,02 cm), com uma diferença média de $DMS = +0,50$ e maior variância observada ($V = 0,50$). Esses resultados sugerem que *Ananas comosus* var. *bracteatus* apresenta uma maior resposta à luz azul-vermelho, indicando que a luz LED Color promove não apenas a elongação celular, mas também uma adaptação fisiológica mais eficiente, possibilitando maior crescimento em altura.

Embora ambos os tratamentos apresentem suporte ao crescimento vertical, a luz LED Color demonstra maior impacto em ambas as variedades, particularmente em *bracteatus*, que exibiu maior sensibilidade às condições de iluminação mais intensivas.

b) Número de Folhas

Para *Ananas comosus* var. *erectifolius* (PAE), o número de folhas foi maior sob luz LED Color (3,32 folhas) em comparação a luz LED Branca (2,95 folhas). A diferença média ($DMS = +0,37$) e a variância observada ($V = 0,37$) indicam que a luz LED Color promove uma proliferação foliar mais intensa. Esse resultado reflete o efeito positivo das luzes azul e vermelha na estimulação da divisão celular, responsável pela formação de novas folhas, conforme observado em estudos dos autores (TAIZ *et al.* 2017 e LIETH & RAVIV, 2021).

Para *Ananas comosus* var. *bracteatus* (PAB), a diferença entre os tratamentos foi ainda mais acentuada. Sob LED Color, o número de folhas foi de 5,87, quase o dobro do observado sob LED Branco (2,95 folhas). A diferença média ($DMS = +2,92$) e a alta variância ($V = 2,92$) reforçam o impacto significativo da luz LED Color na proliferação foliar dessa variedade. Essa resposta sugere que *Ananas comosus* var. *bracteatus* possui uma maior sensibilidade aos comprimentos de onda específicas da luz LED Color, os quais promovem a expressão de genes

relacionados à expansão celular e formação de tecidos fotossintetizantes, conforme identificados pelos autores (GUILHERME, 2018; TAIZ *et al.*, 2017).

Esses dados contrastam com as observações em condições de campo e substrato, onde fatores endógenos, como os níveis hormonais, e a disponibilidade de nutrientes têm maior influência sobre o número de folhas do que a qualidade da luz, observado por (GUILHERME, 2018). Isso destaca a relevância de espectros luminosos específicos em sistemas de cultivo *in vitro*, onde o controle do ambiente é otimizado para maximizar a proliferação foliar.

c) Comprimento das Folhas

O comprimento das folhas variou significativamente entre os tratamentos luminosos, com destaque para *Ananas comosus* var. *erectifolius* (PAE). Sob luz LED Color, o comprimento médio das folhas alcançou 0,87 cm, superando os 0,69 cm observados sob luz LED Branca. A diferença média (DMS = +0,18) e a variância (V = 0,18) refletem o impacto positivo do espectro azul-vermelho no alongamento foliar. A luz azul e vermelha estimula a fotossíntese e a divisão celular, promovendo a elongação celular e o desenvolvimento de folhas mais longas, conforme descrito por (TAIZ *et al.* 2017).

Para *Ananas comosus* var. *bracteatus* (PAB), o comprimento das folhas sob luz LED Color foi significativamente maior (1,32 cm) do que sob luz LED Branca (0,60 cm). A diferença média (DMS = +0,72) e a maior variância (V = 0,72) indicam que a luz LED Color tem um efeito cumulativo mais acentuado na elongação foliar dessa variedade. Esses resultados sugerem que *Ananas comosus* var. *bracteatus* responde de forma mais intensa a espectros luminosos enriquecidos, possivelmente devido à sua maior eficiência em absorver luz azul-vermelho para otimizar processos de crescimento celular e divisão mitótica, que são confirmados pelos achados por (LIETH & RAVIV, 2021).

De forma geral, os resultados indicam que a luz LED Color é mais eficaz para aumentar o comprimento das folhas em ambas as variedades. No entanto, a resposta diferencial entre *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* pode estar relacionada às características genéticas e fisiológicas de cada variedade, que influenciam sua sensibilidade à qualidade da luz. Em ambientes controlados, a combinação de espectros azul e vermelho se mostra vantajosa para otimizar o desenvolvimento foliar e, conseqüentemente, a área fotossintética, explicado por (GUILHERME, 2018).

d) Crescimento Total da Planta

A análise do crescimento total evidenciou que a luz LED Color é mais eficaz em promover o desenvolvimento biométrico em *Ananas comosus* var. *erectifolius*. Sob luz LED Color, o crescimento foi de 0,51 cm, superando o observado sob luz LED Branca (0,30 cm). A diferença média (DMS = +0,21) e a variância ($V = 0,21$) reforçam que o espectro azul-vermelho promove melhor elongação celular e maior eficiência na absorção de luz, estimulando vias hormonais associadas à síntese de auxinas e citocininas, conforme elucidados por (LAMEIRA & CORDEIRO, 2023; TAIZ *et al.*, 2017) em estudos com a mesma variedade. Esse resultado destaca que *Ananas comosus* var. *erectifolius* é mais responsivo a condições luminosas específicas que otimizam processos metabólicos e de fotossíntese.

Por outro lado, para *Ananas comosus* var. *bracteatus*, o crescimento foi ligeiramente superior sob luz LED Branca (0,15 cm) em comparação a luz LED Color (0,12 cm). A diferença média (DMS = -0,03) e a baixa variância ($V = 0,03$) sugerem que *Ananas comosus* var. *bracteatus* possui uma maior estabilidade adaptativa a diferentes espectros de luz, especialmente em estágios iniciais de desenvolvimento. Esses resultados corroboram estudos anteriores que indicam que o comportamento adaptativo dessa variedade pode ser mediado por sua plasticidade fisiológica, permitindo desenvolvimento constante sob diferentes condições luminosas (LIETH & RAVIV, 2021).

4.0 DISCUSSÕES

4.1. Efeito da Iluminação no Desenvolvimento da Altura e Folhagem

O uso de LEDs com espectros distintos resultou em padrões de crescimento diferenciados na altura das plantas e no desenvolvimento foliar das variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Sob luz LED Branca, observou-se um crescimento acelerado em altura nos primeiros 100 dias de cultivo, o que sugere que esse espectro estimula a expansão celular inicial, favorecendo a elongação vertical (SENA *et al.*, 2024). Em contrapartida, a luz LED Color promoveu um crescimento foliar mais denso e uniforme, especialmente na fase intermediária, devido à maior proliferação celular estimulada por comprimentos de onda específicos, como o azul e o vermelho (LAZARINI *et al.*, 2017; LIN *et al.*, 2023).

4.2. Desenvolvimento Radicular e Benefícios Morfofisiológicos

O sistema radicular também apresentou respostas distintas aos tratamentos de luz. Sob luz LED Branca, as plântulas desenvolveram raízes mais longas e robustas, associadas à fotossíntese eficiente e ao maior acúmulo de carboidratos, essenciais para o crescimento radicular (SENA *et al.*, 2024). Por outro lado, a luz LED Color favoreceu a formação de raízes secundárias

e maior ramificação, indicativo da ação de auxinas induzidas por espectros específicos, como a luz vermelha, que otimiza a absorção de nutrientes e a estabilidade da planta (TELLEZ *et al.*, 2020). Essa combinação de efeitos reforça a importância da personalização das condições luminosas de acordo com os objetivos da micropropagação.

4.3. Efeito dos LEDs na Morfogênese e Fitohormônios:

Os espectros luminosos emitidos por LEDs têm influência direta na síntese e regulação de fitohormônios. A luz azul, predominante na luz LED Branca, favorece a produção de citocininas, promovendo a divisão celular e o desenvolvimento aéreo. Por outro lado, a luz LED Color, que combina luz azul e vermelha, induz uma maior produção de auxinas, hormônios essenciais para o alongamento celular e formação de raízes adventícias, como evidenciado em *Ananas comosus* var. *bracteatus* (ADJEI *et al.*, 2021).

A morfogênese foliar e radicular apresenta resposta diferenciada à qualidade da luz. Estudos revelam que a luz vermelha estimula a extensão foliar, enquanto a luz azul intensifica a formação de raízes primárias e secundárias. Esse padrão foi observado em *Ananas comosus* var. *erectifolius*, onde a luz LED Color proporcionou maior densidade radicular e crescimento foliar uniforme (SENA *et al.*, 2024; ABDELFAHATTAH *et al.*, 2023). Esses efeitos estão alinhados com a ação conjunta de auxinas e citocininas no controle de processos morfogênicos (CAMPELO, 2021)

A aplicação de LEDs específicos em cultivo *in vitro* oferece um ambiente controlado que otimiza a expressão de fitohormônios. A interação sinérgica entre luz e hormônios pode ser ajustada para maximizar o crescimento e a qualidade das plântulas, especialmente em variedades ornamentais e de valor econômico elevado. Assim, protocolos específicos podem ser desenvolvidos para cada variedade, visando maior eficiência e sustentabilidade na produção (ALVES, 2022).

4.4 Eficiência Energética e Qualidade do Crescimento

A luz LED Color apresentou eficiência energética superior, proporcionando maior qualidade morfológica das plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Esse espectro de luz combinada permite melhor distribuição energética para processos fotossintéticos e metabólicos, resultando em plantas com maior densidade foliar e sistemas radiculares mais ramificados (LAZARINI *et al.*, 2017; SENA *et al.*, 2024). Comparado a luz LED

Branca, a luz Color otimiza o uso de energia elétrica com menor dissipação de calor, garantindo maior sustentabilidade nas condições *in vitro* (ALVES 2022; ADJEI *et al* 2021).

A análise morfológica revelou que as plântulas cultivadas sob luz LED Branco, embora apresentem maior altura, tendem a formar folhas mais longas e estreitas (LAMEIRA. CORDEIRO, & PIRES, 2020; LAMEIRA & CORDEIRO, 2023). Em contrapartida, o LED Color favorece folhas mais largas e espessas, o que melhora a eficiência fotossintética e a retenção hídrica. Essas diferenças morfológicas indicam que a luz LED Color estimula a expansão celular em regiões específicas, promovendo melhor adaptação fisiológica e potencial crescimento vegetativo (LIN *et al.*, 2023; TELLEZ *et al.*, 2020).

Sob a perspectiva da produção sustentável, o uso de LED Color é preferível para práticas de cultivo *in vitro*. Sua maior eficiência energética, aliada à qualidade superior das plântulas, contribui para a redução de custos operacionais e menor impacto ambiental. A utilização estratégica desse espectro, especialmente em etapas críticas do desenvolvimento, pode integrar práticas agrícolas inovadoras com potencial biotecnológico, atendendo às demandas de sustentabilidade (SOUZA, 2019; ADJEI *et al.*, 2021; PORTUGAL, 2019)

4.6. Implicações Práticas para Produção Comercial:

Os resultados deste estudo reforçam a viabilidade de protocolos diferenciados para o cultivo *in vitro* de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, com foco na produção comercial. A aplicação de LEDs específicos melhora o desenvolvimento vegetativo e a qualidade das mudas. LEDs brancos são indicados para etapas iniciais, promovendo alongação celular e sistemas radiculares profundos, enquanto LEDs coloridos favorecem maior densidade foliar em fases avançadas, resultando em plantas vigorosas e preparadas para o transplante (SILVA *et. al.*, 2020).

A personalização dos espectros luminosos ao longo do cultivo maximiza o rendimento e a uniformidade das mudas (LOTFI *et. al.*, 2019). LEDs coloridos são ideais para mercados ornamentais, que valorizam características foliares diferenciadas. Além disso, ajustar as condições de luz em cada estágio reduz custos e melhora a eficiência energética, atendendo às demandas por práticas agrícolas sustentáveis (PORTELA, 2023)

4.7. Implicações para a Propagação Comercial

A adoção de LEDs específicos é promissora para a produção comercial. LEDs brancos favorecem o rápido estabelecimento inicial, gerando plantas altas e com sistemas radiculares profundos, ideais para o cultivo em campo (LAZARINI *et al.*, 2017; PORTELA, 2023). Em contraste, LEDs coloridos promovem maior desenvolvimento vegetativo e densidade foliar, sendo recomendados para estágios posteriores. Essa abordagem pode aumentar a eficiência energética e alinhar-se a práticas sustentáveis, contribuindo para a conservação de germoplasma e a produção biotecnológica de variedades específicas (LIN *et al.*, 2023; SILVA *et al.*, 2020).

4.8. Limitações e Possíveis Melhorias nos Protocolos.

Alguns resultados não atenderam às expectativas, particularmente no desenvolvimento inicial das plântulas sob luz LED Color. A variabilidade no comprimento das raízes e na densidade foliar pode estar relacionada à composição do meio de cultura ou à insuficiência de luz azul durante estágios críticos do cultivo. Estudos indicam que ajustes nos níveis de macro e micronutrientes, além da concentração de sacarose, podem promover melhorias no crescimento *in vitro* (DIAS, 2021; HUANG *et al.*, 2023; PORTELA 2023).

Para refinar os protocolos, sugere-se o uso de fitoreguladores em concentrações ajustadas ao espectro de luz empregado. A aplicação de auxinas, como o ácido indolacético (AIA), em combinação com citocininas, pode intensificar a elongação celular e a divisão foliar. Além disso, variações no fotoperíodo podem favorecer a indução de raízes e a morfogênese, garantindo maior uniformidade no crescimento das variedades ornamentais (CARVALHO, 2023; SILVA *et al.*, 2020).

Uma abordagem promissora seria a adoção de espectros híbridos de LED, combinando LED Branco e Color em diferentes fases do cultivo. Essa estratégia pode maximizar os benefícios específicos de cada espectro, adaptando-se às necessidades das plântulas durante o desenvolvimento. Adicionalmente, futuros experimentos devem investigar o impacto de fatores como pH do meio de cultura e temperatura no crescimento das plântulas (PORTELA, 2023; FENG *et al.*, 2022).

5.0 CONCLUSÕES

Os resultados desta pesquisa demonstram a contribuição essencial das condições controladas de iluminação para a bioeconomia e a produção sustentável de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Ambas as variedades apresentaram respostas

distintas aos tratamentos com luz LED Branco e LED Color, evidenciando o potencial dessas tecnologias para otimizar o cultivo *in vitro*. O uso de LEDs com espectros azul e vermelho, em particular, mostrou-se uma alternativa ecologicamente viável, reduzindo o consumo energético e promovendo um desenvolvimento mais eficiente das plantas. Essa abordagem, quando integrada a tecnologias de precisão, pode fortalecer programas de melhoramento genético e propagação massiva, minimizando impactos ambientais e reduzindo a dependência de recursos naturais, em consonância com os princípios da sustentabilidade.

A análise das hipóteses revelou que, para *Ananas comosus* var. *erectifolius*, o LED Color foi consistentemente mais eficiente em todas as variáveis analisadas. O espectro azul-vermelho promoveu maior alongação celular, proliferação foliar e crescimento total, refletindo o impacto positivo desse tratamento na biometria da planta. Já para *Ananas comosus* var. *bracteatus*, embora o LED Color tenha apresentado melhores resultados na maioria das variáveis, o LED Branco mostrou desempenho similar ou levemente superior em algumas condições, como no crescimento total. Essa resposta adaptativa sugere que *Ananas comosus* var. *bracteatus* apresenta maior estabilidade em diferentes condições luminosas, tornando-se uma alternativa viável para cultivo em ambientes menos específicos.

Esses achados reforçam a importância de considerar as características fisiológicas de cada variedade para selecionar o tipo de iluminação ideal. A luz LED Branca pode ser uma alternativa eficiente para variedades menos dependentes de estímulos específicos, enquanto a luz LED Color se destaca como a melhor escolha para maximizar o desempenho de variedades com alta sensibilidade aos espectros luminosos, como *Ananas comosus* var. *erectifolius*. Além disso, os resultados enfatizam a relevância de combinar estratégias de iluminação com práticas sustentáveis para aumentar a produtividade em sistemas controlados.

Apesar dos avanços obtidos, algumas lacunas permanecem e indicam a necessidade de estudos adicionais. Investigações mais detalhadas sobre os mecanismos fisiológicos e moleculares que regulam a resposta diferencial das variedades às condições de iluminação são recomendadas. Estudos futuros também devem avaliar o impacto de diferentes intensidades luminosas, fotoperíodos e combinações de espectros sobre o metabolismo vegetal. Por fim, é fundamental observar o comportamento das plantas após a aclimação em campo, verificando a estabilidade das características fenotípicas obtidas no cultivo *in vitro*. Esses estudos podem ampliar a aplicabilidade prática das tecnologias propostas e consolidar estratégias para a produção em larga escala de forma sustentável, alinhada às demandas da bioeconomia.

6.0 REFERÊNCIAS

- ABDELFATTAH, A., *et al.* (2023). **From seed to seed: the role of microbial inheritance in the assembly of the plant microbiome.** Trends in Microbiology. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2022.10.009>
- ADJEI, M. O. *et al.* (2021). **Adventitious root primordia formation and development in the stem of *Ananas comosus* var. *bracteatus* slip,** Plant Signaling & Behavior, 16:11, 1949147, DOI: 10.1080/15592324.2021.194914
- ALVES, M. B. N. (2022). **Empirical use of medicinal plants in the treatment of diseases.** Brazilian Journal of Development, v.8, n.4, 2022.
- CAMPELO, M. F. *et al.* (2021) **Fenologia reprodutiva de *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L. B. Smith) Coppens & F. Leal.** Research, Society and Development, v. 10, n. 5, 2021.
- CARVALHO, G. H. *et al.* (2023) **Efeito da temperatura e da luz no desenvolvimento de bromélias cultivadas in vitro.** Journal of Tropical Agriculture, 2023.
- DIAS, G. J. S. (2021) **Multiplicação in vitro de bromélias *Aechmea aquilega* e *Bromelia balansae*.** Monografia, Instituto Federal Goiano, Ceres, 2021.
- DUARTE, E. F. *et al.* (2023) **Diversidade de frutos e sementes em fitofisionomias de Cerrado e suas implicações para a conservação na Serra Dourada, Goiás, Brasil.** 2023
- FENG, L. *et al.* (2022) **The highly continuous reference genome of a leaf-chimeric red pineapple (*Ananas comosus* var. *bracteatus* f. *tricolor*) provides insights into elaboration of leaf color.** G3, 2022, 12(2), jkab452 <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab452> Advance Access Publication Date: 9 January 2022 GenomeReport.
- GUILHERME, F. A. (2018) **Desenvolvimento foliar em condições controladas: implicações para cultivo in vitro.** Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v. 30, n. 2, p. 198-210, 2018.
- HUANG, J. *et al.* (2023) **Composition, enzyme and antioxidant activities of pineapple,** International Journal of Food Properties, 24:1, 1244-1251, DOI: 10.1080/10942912.2021.1958840.
- LAMEIRA, O. A.; CORDEIRO, I. M. C. C.; PIRES, H. C. G. (2020) **Avaliação dos Descritores Morfoagronômico e Morfoanatômico da Lâmina Foliar de *Pilocarpus: Microphyllus Stapf* ex Wardleworth–Rutaceae, *Ananas Comosus* var. *erectifolius* (L. B. Smith) Coppens & F. Leal–Bromeliaceae e *Psychotria Ipecacuanha* (Brot.) Stokes.** Editora Appris, 2020.
- LAMEIRA, O. A.; CORDEIRO, I. M. C. C.; (2023) **Cultivo de curauá.** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2023.
- LAZZARINI, L. E. S. *et al.* (2017) **Uso de diodos emissores de luz (LED) na fisiologia de plantas cultivadas.** Scientia Agraria Paranaensis, v. 16, n. 2, p. 137-144, 2017.
- LIETH, J. H.; RAVIV, M. **Plant Responses to Light Quality and Quantity: Applications in Controlled Environment Agriculture.** Journal of Plant Physiology, v. 189, p. 43-52, 2021.
- LIN, D. *et al.* (2023) **The Synergistic Mechanism of Photosynthesis and Antioxidant Metabolism between the Green and White Tissues of *Ananas comosus* var. *bracteatus* Chimeric Leaves.** International Journal of Molecular Sciences, v. 24, p. 9238, 2023.

- LIU, C. *et al.* (2022) **The complete chloroplast genome of *Ananas comosus* var. *erectifolius*. Mitochondrial DNA Part B**, v. 7, n. 3, p. 431–433, 2022
- LOTFI, M. *et al.* (2019) **Effects of light quality on the growth and secondary metabolite production of *Pyrus communis* L. in vitro**. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 138, n. 3, p. 557-566, 2019.
- MATYSIAK, B; KOWALSKI. A. (2019) . **White, blue and red LED lighting on growth, morphology and accumulation of flavonoid compounds in leafy greens**. *Zemdirbyste-Agriculture*, vol. 106, No. 3 (2019), p. 281–286 DOI 10.13080/z-a.2019.106.036. ISSN 1392-3196 / e-ISSN 2335-8947
- MUNHOZ, A. N. R. *et al.* (2024) **Aspects of in vitro germination of *Ananas comosus* *erectifolius* and *Ananas comosus* *bracteatus* under temperature and light spectra**. *Contribuciones a Las Ciencias Sociales*, v. 17, n. 10, p. 1–27, 2024.
- MURASHIGE.T & SKOOG F. (1962). **Um meio revisado para crescimento rápido e bioensaios com culturas de tecidos de tabaco**. Publicado pela primeira vez: Julho de 1962 <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- PORTELA, A. C. (2023) **Análise ambiental do uso da fibra de *Ananas erectifolius* (Curauá) na produção de compósitos para uso industrial**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Grande Dourados
- PORTUGAL P. C., C. **Produção de Abacaxi Ornamental**. Boletim Técnico. Embrapa, 2019.
- SENA, E. *et al.* (2024) **Light emitting diode (LED) lights for the improvement of plant performance and production: A comprehensive review**, *Current Research in Biotechnology*, Volume 7, 2024,100184,ISSN 2590-2628,<https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2024.100184>.
- SILVA, D. *et al.* (2020) **In vitro regeneration and callogenesis of *Libidibia ferrea***. *Journal of Experimental Agriculture International* 42(4): 14-24, 2020; Article no.JEAI.56887 ISSN: 2457-0591.
- SOUZA. F. V. *et al.* (2019) **BRS Anauê e BRS Boyrá: as primeiras cultivares de abacaxi ornamental desenvolvidas no Brasil**. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 19:3, 382-386, 2019 Brazilian Society of Plant Breeding. Printed in Brazil <http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332019v19n3c54>.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 7ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- TELLEZ, H. O. *et al.* (2020) **Paclobutrazol no desenvolvimento de mudas de plantas matrizes de abacaxizeiro ornamental**. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 10, e2349108478, 2020 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8478>.
- ZHOU, X. *et al.* (2021) **Metabolome and transcriptome profiling reveals anthocyanin contents and anthocyanin-related genes of chimeric leaves in *Ananas comosus* var. *bracteatus***. *BMC Genomics*, v. 22, n. 331, 2021.

Capítulo 3 – Regeneração de plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* em MS e B5 sob diferentes iluminações.

Antonia Neidilê Ribeiro Munhoz
Doutoranda em Biotecnologia, PGBIOTEC-UFAM
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia no Amazonas-IFAM
Av. Sete de Setembro, 1975 - Centro, Manaus - AM, 69020-120
Email: neidile.munhoz@ifam.edu.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2706-1028>

Luiz Antonio Oliveira
Doutor em Ciências do Solo
Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Endereço: Av. André Araújo, 2936, Petrópolis, Manaus, CEP: 69067-375, Amazonas
Email: luiz.oliveira@inpa.gov.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2008-7292>

Daniel da Silva
Doutor em Biotecnologia e Biodiversidade
Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Endereço: Av. André Araújo, 2936, Petrópolis, Manaus, CEP: 69067-375, Amazonas
Email: daniel.silva@inpa.gov.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9217-4213>

Paulo de Tarso Barbosa Sampaio
Doutor em Ciências Florestais
Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Endereço: Av. André Araújo, 2936, Petrópolis, Manaus, CEP: 69067-375,
Email: sampaio@inpa.gov.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0254-7651>

RESUMO

Este estudo investigou a regeneração *in vitro* de plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob diferentes condições de iluminação e concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) em meios de cultura MS e B5. Os resultados demonstraram que a iluminação com LED branco promoveu as melhores taxas de regeneração e desenvolvimento das plântulas, especialmente no meio B5. Em contraste, o meio MS apresentou maior formação de calos, mas foi menos eficiente na regeneração de brotos. A concentração ideal de BAP variou entre 0,5 e 3 mg/L, com concentrações mais altas inibindo o crescimento radicular e causando variações morfológicas indesejáveis. Estes achados são essenciais para o desenvolvimento de protocolos otimizados para a micropropagação destas variedades de abacaxi ornamental.

Palavras-chave: Micropropagação, *Ananas comosus*, BAP, Iluminação LED, Cultura de Tecidos, Regeneração *in vitro*

ABSTRACT

This study investigated the *in vitro* regeneration of *Ananas comosus* var. *erectifolius* and *Ananas comosus* var. *bracteatus* seedlings under different lighting conditions and concentrations of 6-benzylaminopurine (BAP) in MS and B5 culture media. The results showed that white LED lighting promoted the best regeneration and seedling development rates, especially in B5 medium. In contrast, the MS medium showed greater callus formation but was less efficient in bud regeneration. The optimal BAP concentration ranged from 0.5 to 3 mg/L, with higher concentrations inhibiting root growth and causing undesirable morphological variations. These findings are crucial for developing optimized protocols for the micropropagation of these ornamental pineapple varieties.

Keywords: Micropropagation, *Ananas comosus*, BAP, LED lighting, Tissue Culture, *In vitro* Regeneration.

1. INTRODUÇÃO

O curauá roxo (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) e o abacaxi vermelho (*Ananas comosus* var. *bracteatus*) são variedades que têm despertado interesse tanto comercial quanto cultural, especialmente nas regiões onde são cultivados. Estas espécies são conhecidas por suas características singulares, como a coloração vibrante das folhas e dos frutos, que conferem um alto valor ornamental (LAMEIRA, CORDEIRO, 2023; REINHARDT *et al.*, 2018).

Além do uso tradicional, a crescente demanda em mercados especializados, tanto para ornamentação quanto para produtos derivados, têm aumentado seu valor agregado, tornando-as importantes para pequenos agricultores e comunidades locais. No entanto, apesar do seu potencial, a exploração comercial ainda é limitada pela escassez de técnicas eficientes de propagação (ALI *et al.*, 2020; COLOMBO *et al.*, 2017).

A propagação tradicional dessas variedades por meio de sementes e mudas enfrenta diversas dificuldades, como a baixa taxa de germinação e o tempo prolongado necessário para que as plantas atinjam maturidade. Estas limitações destacam a necessidade de desenvolver e implementar métodos de propagação mais eficientes e controlados, que possam garantir a produção em larga escala e a sustentabilidade do cultivo (REINHARDT *et al.*, 2018; COLOMBO *et al.*, 2017).

Técnicas como a cultura de tecidos e a micropropagação, aliadas ao uso de ambientes controlados com diferentes condições de iluminação, surgem como alternativas promissoras para superar essas barreiras, promovendo a regeneração eficaz das plântulas e, consequentemente, a viabilidade comercial dessas espécies únicas (GUERRA, CAUTÍN, CASTRO, 2024)

Na clonagem de plantas de alto valor, vem permitindo a reprodução de genótipos específicos com grande precisão e consistência. Além disso, a regeneração *in vitro* oferece uma plataforma para o estudo e a manipulação do desenvolvimento de plantas, sendo uma ferramenta essencial em programas de melhoramento genético e conservação de recursos genéticos (AWERE *et al.*, 2024; BHAT *et al.*, 2022).

Os benefícios da micropropagação são diversos, destacando-se a produção de mudas uniformes e livres de doenças, o que é vital para garantir a sanidade das plantações comerciais e a uniformidade das safras. Ela também facilita a conservação de recursos genéticos, permitindo a preservação de variedades raras ou em risco, bem como a criação de bancos de germoplasma *in vitro* (AWERE *et al.*, 2024; BHAT *et al.*, 2022).

Com manipulação genética também será possível a introdução de genes de interesse ou a eliminação de características indesejáveis, o que pode resultar em plantas com maior resistência a pragas, doenças ou condições ambientais adversas. Essa capacidade de manipulação genética, aliada à produção de plantas em larga escala, torna a micropropagação um instrumento para alcançar eficiência e eficácia dos objetivos tanto para a pesquisa científica quanto para a agricultura comercial (AWERE *et al.*, 2024; BHAT *et al.*, 2022)

1.1 Efeito da Iluminação na Regeneração *In Vitro*

A luz desempenha um papel fundamental no desenvolvimento das plantas, influenciando diretamente processos como a fotossíntese, a morfogênese e a fisiologia vegetal. A fotossíntese, que é o processo pelo qual as plantas convertem luz em energia química, é altamente dependente da qualidade e intensidade da luz disponível. Além disso, a morfogênese, que envolve a formação e o desenvolvimento dos órgãos das plantas, é regulada por sinais de luz que determinam o crescimento e a orientação dos tecidos vegetais. Fatores como o comprimento de onda e a intensidade luminosa afetam significativamente a fisiologia das plantas, influenciando a produção de fitohormônios e, consequentemente, o desenvolvimento e a regeneração das mesmas (LONG *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2020).

Estudos anteriores têm investigado o efeito da iluminação na regeneração *in vitro* de diferentes espécies vegetais, revelando que a qualidade e a intensidade da luz podem impactar de maneira significativa a eficiência desse processo. Por exemplo, a luz azul tem sido associada a uma maior taxa de regeneração e produção de biomassa em várias espécies, enquanto a luz vermelha pode promover a elongação celular e o desenvolvimento de raízes (CHEN *et al.*, 2020).

No entanto, há uma lacuna significativa no conhecimento sobre o efeito específico da iluminação na regeneração *in vitro* do curauá roxo (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) e do abacaxi vermelho (*Ananas comosus* var. *bracteatus*), o que torna essencial a realização de estudos direcionados para entender melhor como diferentes condições de luz podem influenciar o sucesso da propagação dessas variedades. Diante disso, objetivou-se investigar o efeito da iluminação na regeneração *in vitro* de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* em meios MS e B5.

Ananas comosus var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Embora vários estudos tenham abordado a influência da luz na regeneração de outras espécies vegetais, poucos investigaram especificamente essas variedades de abacaxi, o que cria uma necessidade urgente de pesquisas adicionais. A maior parte das pesquisas concentra-se em parâmetros como intensidade luminosa e qualidade da luz, mas há uma falta de consenso sobre como esses fatores podem afetar a morfologia e a taxa de crescimento das plântulas de *Ananas* (IQBAL *et al.*, 2016; PAIXÃO 2023).

Com base na literatura disponível, é possível formular a hipótese de que a regeneração *in vitro* de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* será significativamente influenciada pelo tipo de iluminação utilizada durante o cultivo. Diferentes tipos de luz, como LEDs vermelhos e azuis, não só afetarão a taxa de regeneração das plântulas, mas também a morfologia e o crescimento das mesmas (SILVA, CARDOSO, ZENG, 2015; DA SILVA *et al.*, 2022).

Além disso, espera-se que os meios de cultura MS e B5 apresentem resultados distintos sob diferentes condições de iluminação, impactando diretamente as variáveis avaliadas, como a taxa de regeneração e a morfologia das plântulas.

2. Curauá Roxo e Abacaxi Vermelho: Características e Importância

O curauá roxo (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) e o abacaxi vermelho (*Ananas comosus* var. *bracteatus*) são variedades que possuem grande relevância tanto no contexto botânico quanto

econômico. Originárias do Brasil, essas variedades são amplamente reconhecidas por suas características ornamentais, como a coloração vibrante das folhas e dos frutos, que as tornam ideais para uso em paisagismo e decoração. Além do mais, suas propriedades nutricionais, especialmente a presença de compostos fenólicos e atividade antioxidante, têm sido foco de estudos recentes, que apontam para o potencial desses frutos na indústria alimentícia e farmacêutica. Esses fatores, aliados à sua adaptabilidade a diferentes ambientes, reforçam a importância do curauá roxo e abacaxi-vermelho no mercado global (CACAI, 2023; PAIXÃO, 2023).

A importância econômica e cultural dessas variedades vai além de seu uso ornamental. O curauá roxo e o abacaxi vermelho tem grande potencial para o mercado de frutas frescas e processadas, sendo uma alternativa promissora para pequenos e grandes produtores, especialmente em regiões tropicais onde seu cultivo é viável.

Estudos indicam que, embora ainda subexploradas, essas variedades possuem uma demanda crescente no mercado internacional, principalmente na Europa e nos Estados Unidos, devido à sua aparência exótica e durabilidade. A expansão de sua produção e comercialização pode, portanto, contribuir significativamente para o desenvolvimento econômico de comunidades rurais e para a preservação de recursos genéticos nativos (TORRES *et al.*, 2022; CARVALHO *et al.*, 2019).

2.2 Micropropagação e Regeneração In Vitro de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*

A micropropagação e a regeneração *in vitro* de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* têm sido amplamente estudadas, com diversas técnicas sendo desenvolvidas para otimizar a produção dessas variedades. Estudos iniciais abordaram o uso de diferentes reguladores de crescimento vegetal, como BAP e ANA, em meios de cultura baseados no MS, para a indução de brotações e alongamento de explantes.

Recentemente, novas abordagens têm explorado a utilização de estiolamento e condições controladas de luz para melhorar a eficiência da micropropagação, resultando em um maior número de mudas com características desejáveis e uniformidade genética. Essas técnicas não apenas melhoram a taxa de multiplicação, mas também reduzem a variabilidade somaclonal, garantindo a qualidade das plântulas regeneradas (SILVA-MORAES, 2024; PAIXÃO 2023).

Apesar dos avanços, a micropropagação e a regeneração *in vitro* de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* ainda enfrentam desafios significativos, especialmente no que diz respeito à adaptação das plântulas ao ambiente *ex vitro* e à manutenção da fidelidade genética. A transferência de plantas do ambiente *in vitro* para o campo continua sendo um obstáculo, devido à necessidade de condições específicas de aclimação para garantir a sobrevivência e o desenvolvimento adequado das plantas (SANTOS, SALOMAO, 2023).

Ademais, a variabilidade somaclonal induzida durante o processo de micropropagação pode resultar em plântulas com características indesejáveis, comprometendo o valor comercial das mudas. No entanto, a pesquisa contínua em otimização de protocolos e a introdução de tecnologias como biorreatores de imersão temporária prometem superar essas barreiras e aumentar a viabilidade comercial dessas espécies (CARVALHO, 2019).

2.3 Efeito da Iluminação na Regeneração *In Vitro* de Plantas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* (curauá roxo e abacaxi-vermelho)

A iluminação desempenha um papel fundamental na regeneração *in vitro* de plantas, influenciando diretamente processos como fotossíntese, produção de hormônios vegetais e morfogênese. Estudos anteriores sobre a regeneração de diferentes espécies vegetais mostraram que a qualidade da luz, incluindo espectros específicos como o azul e o vermelho, pode afetar significativamente a taxa de regeneração e a morfologia das plântulas. Em *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, esses efeitos são particularmente relevantes, pois a luz influencia diretamente a eficiência da micropropagação e a viabilidade das plântulas regeneradas (REINHARDT *et al.*, 2018; BARBOSA, 2023).

Diferentes fontes de luz têm sido utilizadas em estudos de regeneração *in vitro*, cada uma com seus respectivos efeitos nas plantas. As lâmpadas fluorescentes ainda são amplamente usadas devido à sua eficácia e custo acessível. No entanto, a utilização de LEDs está ganhando destaque devido à sua capacidade de emitir luz em comprimentos de onda específicos e sua eficiência energética superior. Estudos demonstram que o uso de LEDs, especialmente em espectros vermelho e azul, não apenas melhora o crescimento das plântulas, mas também reduz a variabilidade somaclonal, aumentando a qualidade das mudas produzidas (PANG *et al.*, 2023, AHMAD *et al.*, 2024).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

Preparação e cultivo dos explantes

Explantes foliares foram obtidos de plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, previamente cultivadas *in vitro*. Os explantes foram transferidos para tubos de ensaio com dimensões de 25 x 200 mm, vedados com tampas plásticas contendo filtros, e preenchidos com 30 mL de meio de cultura MS sem a adição de reguladores sintéticos de crescimento, conforme descrito por Murashige e Skoog (1962). Após 127 dias de cultivo, os explantes foram segmentados em estruturas foliares, segmento nodal e raízes para posterior experimentação.

Regeneração e meios de cultura

A regeneração ocorreu a partir de segmentos nodais inoculadas em dois tipos de meios de cultura: MS e B5. Ambos foram suplementados com reguladores sintéticos de crescimento, 30 g/L de sacarose e solidificados com 7 g/L de ágar. O pH dos meios foi ajustado para $5,8 \pm 0,1$ antes do processo de autoclavagem, realizado a 121 °C por 15 minutos. O meio B5 foi enriquecido com piridoxina (1 g), mio-inositol (100 mg), tiamina (10 mg) e ácido nicotínico (1 mg). Em ambos os meios, foram adicionadas diferentes concentrações de BAP (0,0; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0 mg/L), totalizando cinco tratamentos com seis controles adicionais sem a inclusão de auxinas.

Planejamento experimental

O experimento foi conduzido sob três condições de iluminação: (i) luz branca (100% LED branco - 420 nm), (ii) luz azul-vermelha (100% LED Color - 460 nm e 660 nm) e (iii) escuro. Foram realizados 135 tratamentos para cada meio de cultura, com nove repetições por tratamento, resultando em um total de 270 explantes avaliados. Os explantes foram distribuídos em frascos contendo 30 mL de meio de cultura e mantidos por 30 dias em uma sala de crescimento climatizada, com temperatura controlada de $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ e fotoperíodo de 16 horas.

Condições ambientais e isolamento

As fontes luminosas foram posicionadas a 40 cm acima das bancadas experimentais e organizadas em compartimentos isolados para evitar interferências entre os diferentes tratamentos luminosos. A temperatura da sala foi mantida constante em $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$, conforme as recomendações descritas por Embrapa (2010).

Avaliação e análise das variáveis

O Experimentos III avaliou a resposta regenerativa de explantes nodais de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* submetidos a diferentes condições de luz e combinações de reguladores de crescimento. Para uma análise detalhada e padronizada, as respostas regenerativas foram classificadas em quatro categorias principais:

1. **Explantes sem Regeneração:** Explantes que não apresentaram brotações nem calos.
2. **Explantes com Brotações (sem Calos):** Explantes que desenvolveram brotações, mas não formaram calos.
3. **Explantes com Calos (sem Brotações):** Explantes que formaram calos, mas não produziram brotações.
4. **Explantes com Brotações e Calos:** Explantes que apresentaram ambos os tipos de resposta.

Além disso, foram realizadas as seguintes avaliações para complementar a análise regenerativa:

- **Taxa de Regeneração de Plântulas (%):** Calculada pelo número de plântulas regeneradas por explante em relação ao total de explantes cultivados.
- **Morfologia das Plântulas Regeneradas:** Incluiu a medição de variáveis biométricas como altura, número de folhas, número de raízes e comprimento das raízes, fornecendo uma análise detalhada da qualidade das plântulas formadas.

Essas análises permitiram uma avaliação abrangente da eficácia regenerativa e da interação entre os reguladores de crescimento e as condições de luz sobre as variedades.

Análise Quantitativa e Fórmulas Aplicadas

Para a análise quantitativa, foram aplicadas fórmulas específicas às categorias de resposta regenerativa, possibilitando uma descrição detalhada dos resultados:

1. Explantes sem Regeneração (%):

$$\text{Explantes sem Regeneração (\%)} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de Explantes sem Regeneração}) \times (\text{Total de Explantes Cultivados})}{100}$$

2. Explantes com Brotações (sem Calos) (%)

$$\text{Explantes com Brotações (sem Calos) (\%)} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de Expl. com Brotações (sem Calos)}) \times (\text{Total de Expl. Cultivados})}{100}$$

3. Explantes com Calos (sem Brotações) (%) =

$$\text{Explantes com Calos (sem Brotações) (\%)} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de Expl. com Calos (sem Brotações)}) \times (\text{Total de Expl. Cultivados})}{100}$$

100

4. Explantes com Brotações e Calos (%)

$$\text{Explantes com Brotações e Calos (\%)} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de Expl. com Brotações e Calos}) \times (\text{Total de Expl. Cultivados})}{100}$$

5. Taxa de Regeneração de Plântulas (%)

$$\text{Taxa de Regeneração de Plântulas (\%)} = \frac{(\text{N}^\circ \text{ de Plântulas Regeneradas}) \times (\text{Total de Explantes Cultivados})}{100}$$

Procedimentos e Análises

Os valores obtidos por meio das fórmulas foram empregados para avaliar a regeneração, considerando a interação entre os espectros de luz e os meios de cultura (MS e B5). Além disso, foram calculados índices de qualidade regenerativa das plântulas, baseados nas variáveis biométricas medidas.

Os dados foram analisados estatisticamente utilizando testes de normalidade Shapiro-Wilk ($p = 0,05$) e ANOVA para determinar diferenças significativas entre os tratamentos. Quando necessário, as médias foram comparadas por meio dos testes t de Student e SNK (Student-Newman-Keuls) com significância de 5%. Para visualização, gráficos de barras e dispersão foram desenvolvidos utilizando Python 3.10, com as bibliotecas Matplotlib e Seaborn, garantindo clareza na interpretação.

Organização e Apresentação dos Dados

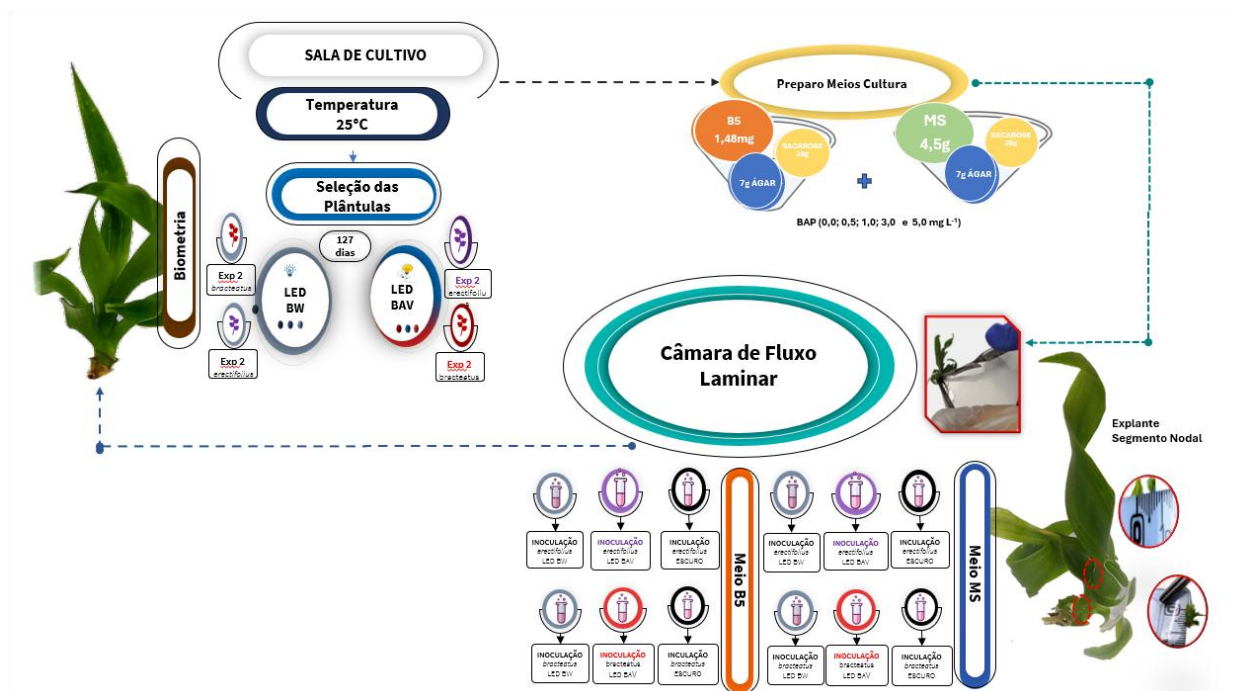
Os resultados obtidos foram organizados em categorias e variáveis descritas na Tabela 1 e 2 Resumo Consolidado das Respostas Regenerativas e Variáveis Morfológicas de Explantes de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob Diferentes Condições de Luz e Meios de Cultura, destacando:

1. **Frequência de Regeneração (%):** Percentual de explantes que apresentaram diferentes respostas regenerativas.
2. **Taxa de Regeneração de Plântulas (%):** Proporção de plântulas regeneradas em relação ao total de explantes cultivados.
3. **Variáveis Morfológicas:** Incluem altura média das plântulas, número médio de folhas, comprimento médio das raízes e número médio de raízes, fornecendo uma análise detalhada da qualidade do material regenerado.

Essa estrutura permitiu uma análise comparativa precisa entre os tratamentos, facilitando a identificação das condições experimentais mais eficazes para cada variedade. Esses dados

contribuem diretamente para o aprimoramento de protocolos de cultivo in vitro, com potencial aplicação em biotecnologia vegetal.

Figura 1- Organograma do Experimento Regeneração de plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

3.2 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando um delineamento inteiramente casualizado em fatorial 2x3x5 (meio de cultura X iluminação X concentrações). Na presença de significância estatística, foi realizada a comparação de médias entre os tratamentos utilizando os testes de Tukey e Student-Newman-Keuls (SNK) para $p > 0,05$.

As análises estatísticas foram conduzidas no software **BioEstat 5.8**. Os gráficos de **Regressão Linear** e **Gráficos de Dispersão** para as variáveis **Altura da Planta**, **Número de Folhas**, **Largura da Folha**, **Comprimento da Folha** e **Número de Raízes**, em relação à variável independente **Crescimento**, foram gerados utilizando **Python 3.10** na plataforma **Jupyter Notebook 7.0.8**.

As bibliotecas Python empregadas para análise gráfica e estatística foram:

- **Pandas:** Manipulação e análise de dados tabulares.
- **Matplotlib:** Criação de gráficos e visualizações básicas.
- **Seaborn:** Visualizações estatísticas aprimoradas.

- **Scikit-learn:** Modelagem de regressão linear e métricas estatísticas.

Essa metodologia estatística permitiu uma análise detalhada da influência das variáveis no processo de germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados corroboram estudos prévios que investigaram a regeneração em *Ananas comosus* e outras espécies. Cacaï *et al.* (2023) demonstraram que o meio MS suplementado com BAP favoreceu tanto a formação de brotos quanto de calos em concentrações entre 0,5 e 1,5 mg·L⁻¹, com a iluminação LED branca apresentando maior eficiência para diferentes respostas morfogênética (Figura 6). Esse padrão é consistente com as respostas observadas na regeneração de *Ananas comosus* var. *erectifolius*, que apresentou formação de brotos em concentrações de 0,5 mg·L⁻¹ sob luz LED branca (Tabela 1). Por outro lado, na *Ananas comosus* var. *bracteatus*, a formação predominante foi de calos nas mesmas concentrações e condições de luz no meio MS.

Em contraste, Garcia *et al.* (2021) reportaram que o meio suplementado com concentrações mais elevadas de citocininas (4,44 µM de BAP) promoveu uma maior frequência de regeneração em espécies de *Aechmea*. No entanto, o presente estudo revela que, em *Ananas comosus*, as concentrações mais altas de BAP (5,0 mg·L⁻¹) podem reduzir a regeneração, especialmente sob LED colorida, sugerindo uma resposta específica de espécie.

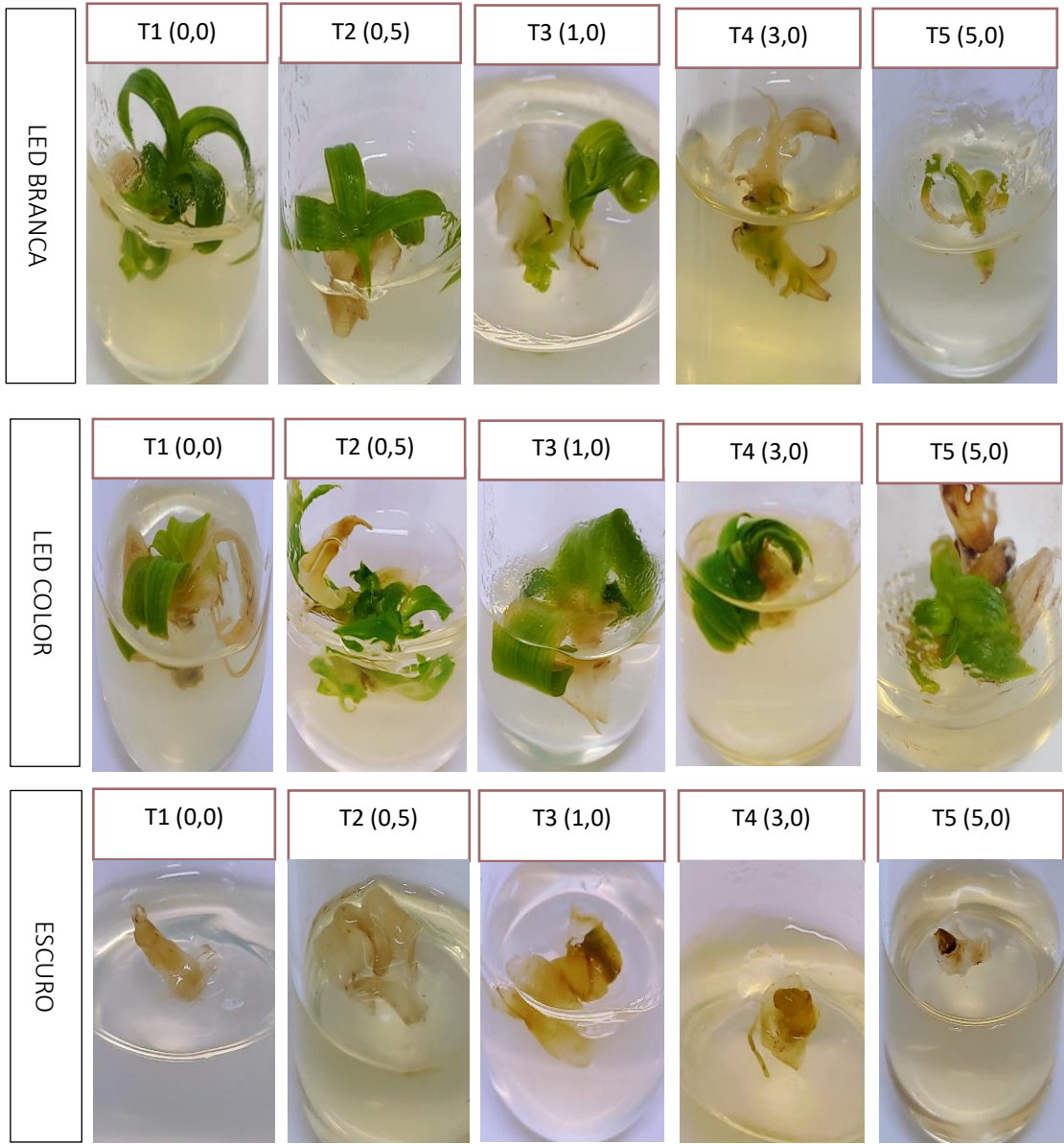
Mohammadi *et al.* (2024) destacaram a influência crítica da iluminação no direcionamento da organogênese. Em *Suaeda glauca*, a interação entre BAP e IBA, aliada à iluminação branca, promoveu taxas de regeneração mais elevadas. Esse resultado encontra eco no comportamento observado na espécie *Ananas comosus* var. *bracteatus* em luz LED branca, onde a regeneração foi mais eficiente na ausência de reguladores de crescimento.

Dal Vesco *et al.* (2014) relataram que bromélias nativas respondem bem ao meio MS suplementado com citocininas em baixos níveis, reforçando o papel das condições nutricionais específicas para a formação de calos. No entanto, no presente estudo, o meio B5 demonstrou ser mais adequado para a regeneração de brotos (Tabela 2) sob condições específicas de iluminação, sugerindo que variações nutricionais podem favorecer diferentes respostas morfogênética.

A regeneração em *Ananas comosus* é significativamente influenciada pelas condições de iluminação e pelas concentrações de BAP (Figura 2 e 3). Os resultados confirmam que o meio B5, mesmo com composição nutricional reduzida, pode favorecer a regeneração de brotos,

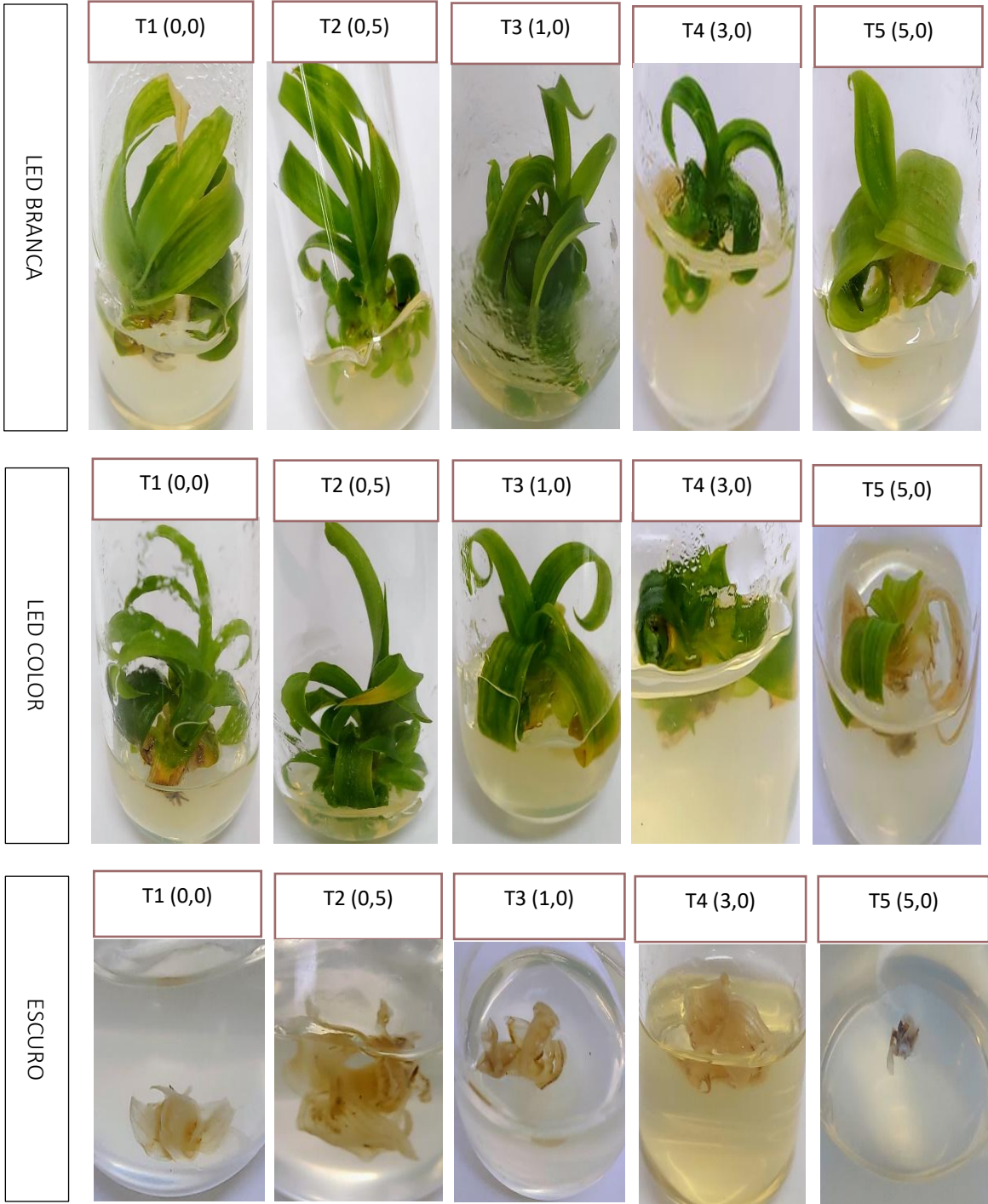
dependendo da variedade e das condições experimentais. Essas respostas contrastam com estudos anteriores em outras bromélias, destacando a necessidade de ajustes finos nos protocolos para otimizar a regeneração e formação de brotos.

Figura 2. Regeneração com desenvolvimento de brotos de *Ananas comosus* var. *bracteatus* B5+BAP em luz LED Branca, luz LED Color e Escuro



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

Figura 3. Regeneração com desenvolvimento de brotos *Ananas comosus* var. *erectifolius* B5+BAP em luz LED Branca, luz LED Color e Escuro



Fonte,: Elaborado pelo Autor, 2024

Tabela 1: Resumo Consolidado das variáveis de Indução de Calos e Brotos (%) nas diferentes Condições Experimentais sobre *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* em Meio MS + BAP

Variedade	Meio	Condição Experimental	Condições de Iluminação	Total de Explantes Cultivados	Sem Regeneração (%)	Explantes com Brotações (sem Calos) (%)	Explantes Com Calos (sem Brotações) (%)	Explantes com Brotações e Calos (%)	Taxa de Regeneração de Plântulas (%)
<i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i>	MS + BAP	0,0	LED Branca	45	-	-	-	-	100.00
		0,5			-	-	-	11.11	88.89
		1,0			-	-	-	-	100.00
		3,0			-	-	-	-	100.00
		5,0			-	-	-	-	100.00
		0,0	LED Color	45	-	-	-	-	100.00
		0,5			-	-	-	-	100.00
		1,0			-	-	-	-	100.00
		3,0			-	-	-	-	100.00
		5,0			-	-	-	-	100.00
<i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	MS + BAP	0,0	LED Branca	45	-	-	-	-	100.00
		0,5			-	-	11.11	-	88.89
		1,0			-	-	33.33	-	66.67
		3,0			-	-	-	-	100.00
		5,0			-	-	-	-	100.00
		0,0	LED Color	45	-	-	-	-	100.00
		0,5			-	-	-	-	100.00
		1,0			-	-	-	-	100.00
		3,0			-	-	-	-	100.00
		5,0			-	-	-	-	100.00

- Não houve formação de brotos e calos na condição para ausência de luz (escuro) em todas as condições experimentais para esta variedade.

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

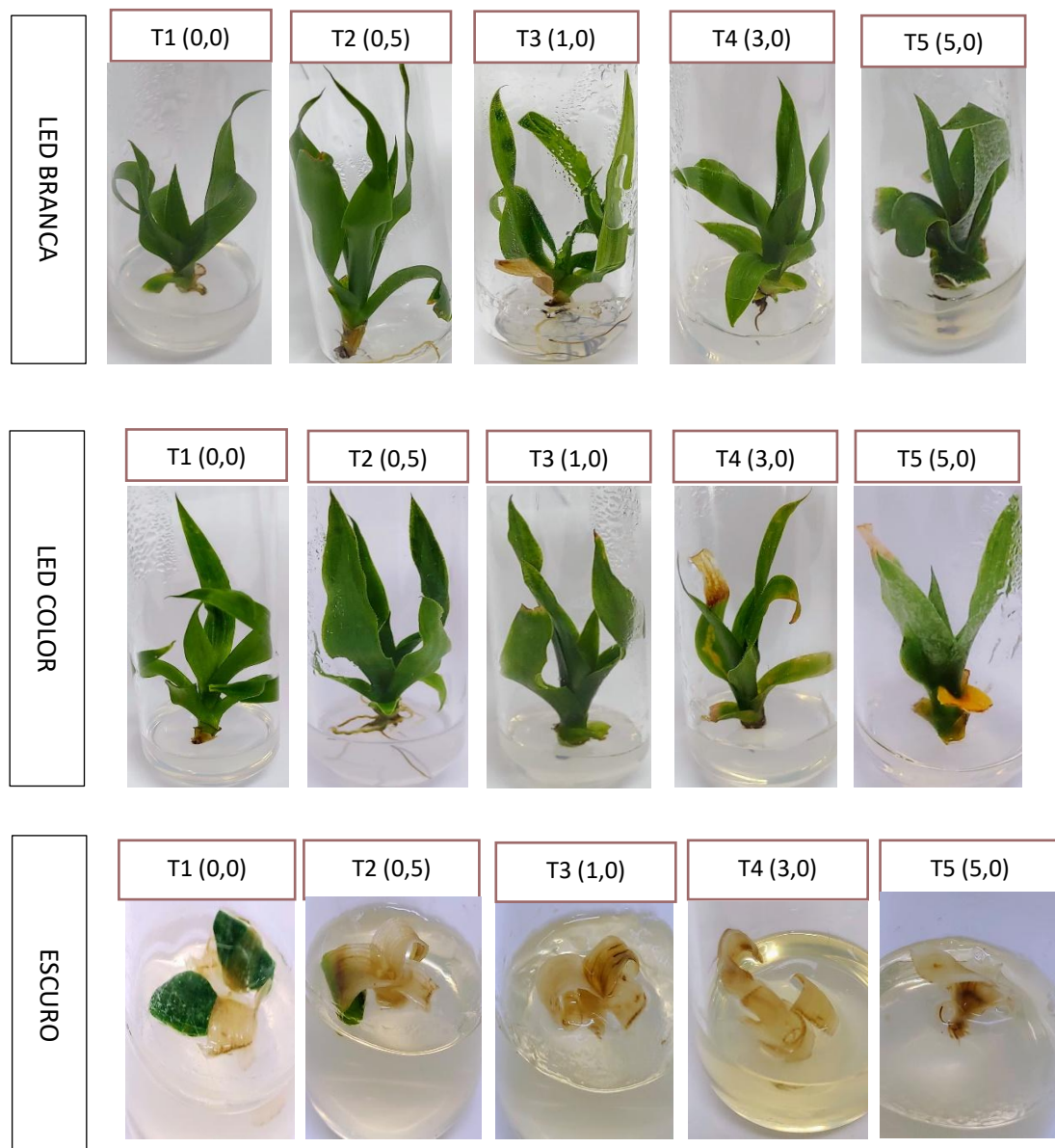
Tabela 2. Resumo Consolidado das variáveis de Indução de Calos e Brotos (%) nas diferentes Condições Experimentais sobre *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* em Meio B5 + BAP

Variedade	Meio	Condição Experimental	Condições de Iluminação	Total de Explantes Cultivados	Sem Regeneração (%)	Explantes com Brotações (sem Calos) (%)	Explantes Com Calos (sem Brotações) (%)	Explantes com Brotações e Calos (%)	Taxa de Regeneração de Plântulas (%)
<i>Ananas comosus</i> var. <i>erectifolius</i>	B5 +BAP	0,0	LED Branca	45	-	100.00	-	-	100.00
		0,5			11.11	88.89	-	-	88.89
		1,0			-	100.00	-	-	100.00
		3,0			11.11	88.89	-	-	88.89
		5,0			-	100.00	-	-	100.00
		0,0	LED Color	45	-	100.00	-	-	100.00
		0,5			33.33	66.67	-	-	66.67
		1,0			22.22	100.00	-	-	77.78
		3,0			22.22	77.78	-	-	77.78
		5,0			88.89	11.11	-	-	11.11
<i>Ananas comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	B5 +BAP	0,0	LED Branca	45	22.22	88.89	-	-	88.89
		0,5			33.33	66.67	-	-	66.67
		1,0			44.44	55.56	-	-	77.78
		3,0			88.89	11.11	-	-	11.11
		5,0			88.89	11.11	-	-	11.11
		0,0	LED color	45	88.89	11.11	-	-	11.11
		0,5			11.11	88.89	-	-	88.89
		1,0			77.78	22.22	-	-	88.89
		3,0			44.46	55.56	-	-	56.56
		5,0			77.76	22.22	-	-	22.22

- Não houve formação de brotos e calos na condição para ausência de luz (escuro) em todas as condições experimentais para esta variedade.

Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

Figura. 4 - Regeneração de *Ananas comosus* var. *erectifolius* MS+BAP sob diferentes condições de luminosidades (LED Branca, LED Color e Ausência de Luz ou Escuro).



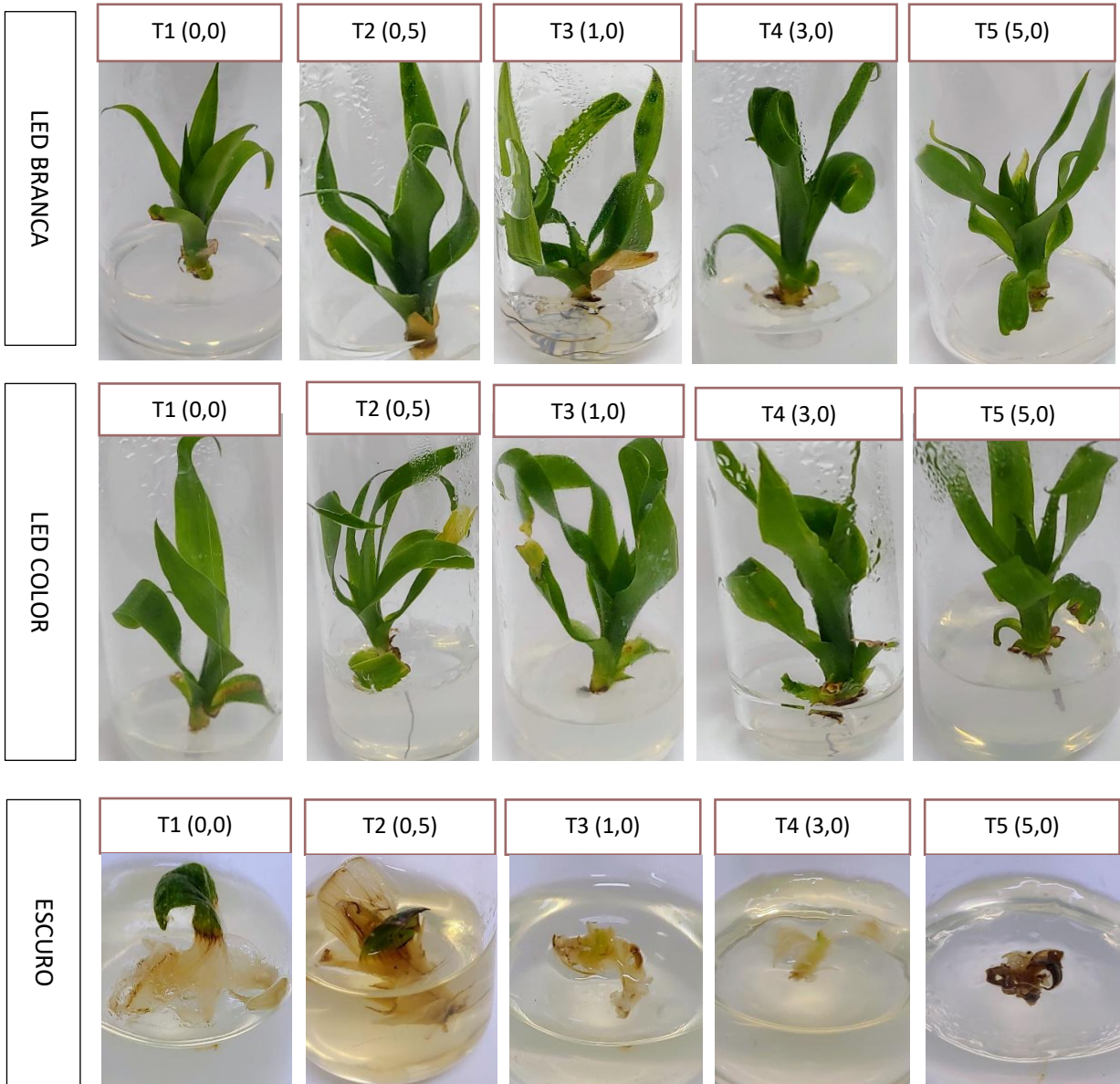
Fonte: Elaborado pelo Autor 2024

4.1 Efeito do meio MS e B5 suplementado com BAP na regeneração de plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* em condições de luminosidade distintas.

A análise das variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* sob diferentes concentrações de BAP e condições de luminosidade no meio de cultura MS (Figura 7A e 7B) revela diferenças notáveis em seu comportamento de crescimento. A variedade *erectifolius* apresenta uma resposta moderada ao aumento da

concentração de BAP, com a linha de tendência mostrando uma leve inclinação positiva, sugerindo um aumento de 0,81 folhas para cada 1 mg/L adicional de BAP.

Figura 5. Regeneração de *Ananas comosus* var. *bracteatus* MS+BAP sob diferentes condições de luminosidades (LED Branca, LED Color e Ausência de Luz ou Escuro)



Fonte: Elaborados pelo Autor, 2024

Figura 6. Etapas da morfogênese da organogênese de *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius* - a, b, c) Estágio inicial de conversão de células em planta e calos com células diferenciadas; d, e) Calos diferenciados e Plantas jovens a serem transferidas para o meio de cultivo; f) Plantas regeneradas e estágios iniciais de desenvolvimento; g) Mudas da variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* obtidas no meio de cultivo. Barra de escala 2mm

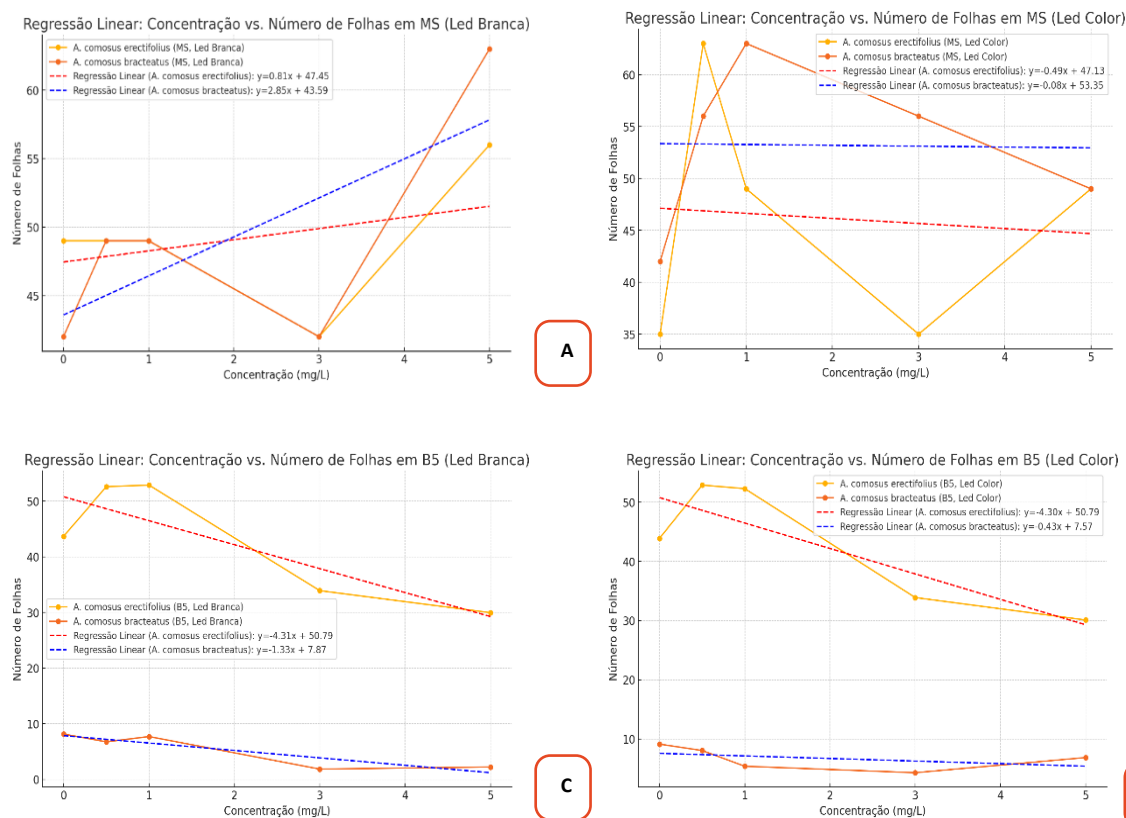


Fonte: Elaborado pelo Autor. 2024

Esse comportamento, caracterizado por um crescimento mais estável e menos acentuado, corroboram com os achados de Santos (2023), onde a variedade ‘Turiaçu’ também exibiu uma resposta semelhante ao estiolamento, resultando em crescimento controlado das plântulas. A partir de 3 mg/L, há um incremento mais notável no número de folhas, embora ainda inferior ao observado na variedade *bracteatus*. Esse comportamento reflete a capacidade limitada de *Ananas comosus* var. *erectifolius* em responder agressivamente a altas concentrações de reguladores de crescimento.

Por outro lado, *Ananas comosus* var. *bracteatus* exibe uma resposta significativamente mais robusta ao aumento da concentração de BAP, com um coeficiente de 2,85, indicando um aumento acentuado no número de folhas. Este comportamento sugere que *Ananas comosus* var. *bracteatus* é mais sensível e responsivo às variações na concentração de BAP, o que é corroborado por estudos como o de Santos (2023), que destacam a resposta positiva de *Ananas comosus* ao BAP, especialmente em concentrações elevadas.

Figura 7. A) Regressão Linear – Concentração vs. Número de Folhas em MS LED Branca e B) LED Color para *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*; C) Regressão Linear – Concentração vs. Número de Folhas em B5 LED Branca e D) LED Color para *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

Esse Impacto Positivo no Número de Folhas, em resposta a aplicação de BAP como observado na variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Mais folhas geralmente indicam uma maior área fotossintética, o que pode aumentar a capacidade da planta de produzir carboidratos e outros produtos fotossintéticos essenciais para o crescimento e desenvolvimento dos frutos. Estudos realizados por Santos (2023) corroboram essa observação, destacando a eficácia do BAP na indução de crescimento vegetativo em *Ananas comosus*, com incrementos significativos na biomassa foliar e eficiência fotossintética. Além disso, Vásquez-Jiménez *et al.* (2023) ressaltam que o manejo adequado de reguladores de crescimento como BAP pode melhorar consideravelmente o desenvolvimento vegetativo em cultivares comerciais de abacaxi, como ‘MD-2’.

A variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* demonstrou um crescimento vegetativo expressivo, especialmente em concentrações acima de 3 mg/L, o que pode ser associado à maior eficiência no uso de reguladores de crescimento. Por outro lado, altas concentrações de

BAP além elevar a um crescimento vegetativo excessivo, em alguns casos, pode desviar a energia da planta da frutificação para o crescimento das folhas. Isso pode resultar em frutos menores ou de menor qualidade, especialmente se a competição interna por recursos não for bem equilibrada. Esse fenômeno, foi observado em outras variedades de abacaxi sob diferentes condições ambientais (JUNGHANS *et al.*, 2015)

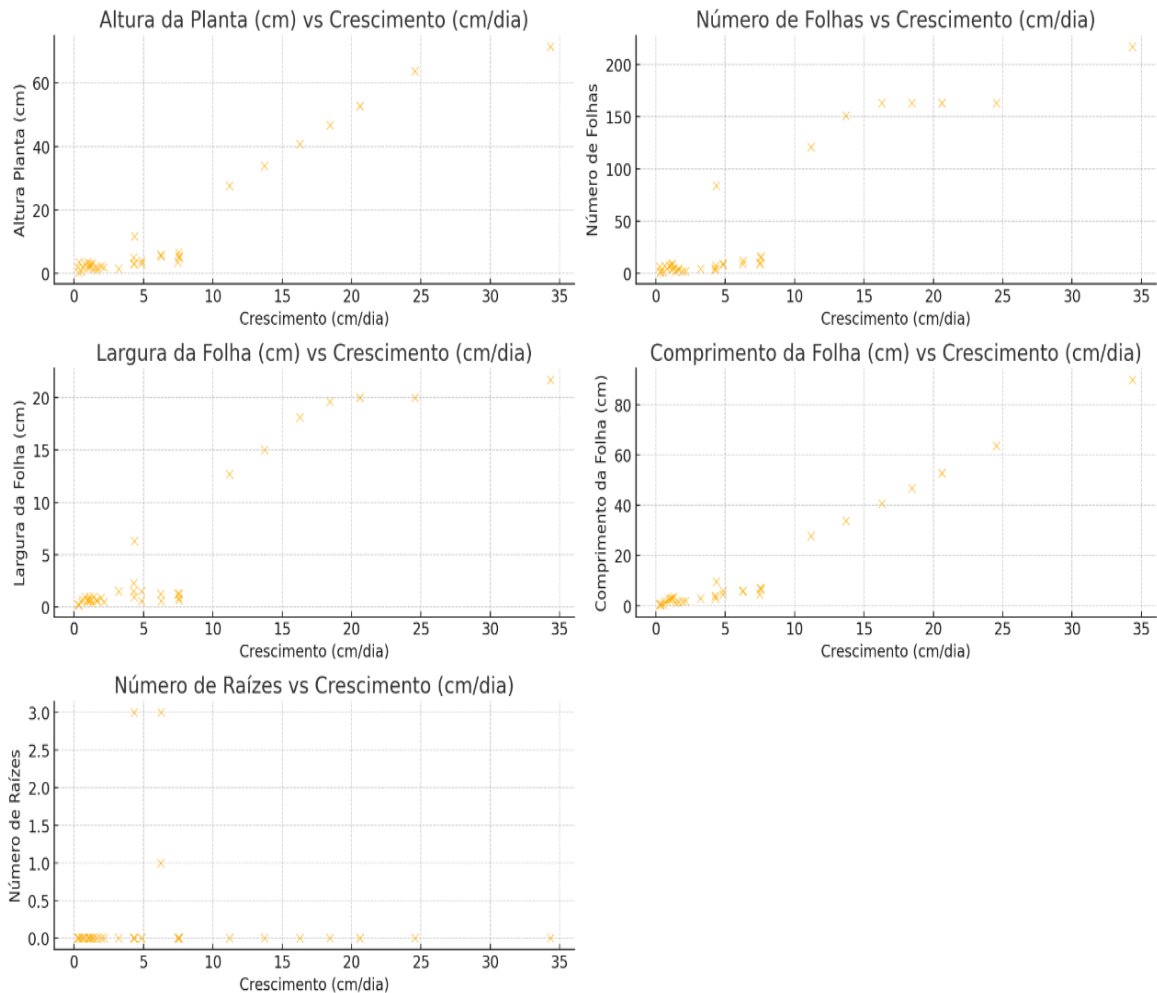
Ao comparar o desempenho das variedades nos meios MS e B5, as Figuras 7C (LED branca) e Figura 7D (LED color) indicam que, em geral, a variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* continua a responder melhor ao BAP em ambos os meios, com uma inclinação positiva mais acentuada nas suas curvas de crescimento. No entanto, o meio MS proporciona um crescimento mais pronunciado do que o B5, especialmente sob LED branca, sugerindo que o meio MS pode ser mais eficaz para promover o desenvolvimento foliar quando combinado com altas concentrações de BAP. A superioridade do meio MS também é corroborada por Santos (2023), que destaca sua eficácia em fornecer os nutrientes essenciais para o crescimento vegetativo vigoroso de *Ananas comosus*, especialmente quando associado a reguladores de crescimento como o BAP.

Em contrapartida, o meio B5, apesar de menos nutritivo, ainda permite um crescimento adequado, especialmente para *Ananas comosus* var. *bracteatus*, indicando que pode ser uma alternativa viável para situações em que os recursos são limitados ou quando se busca um crescimento vegetativo mais controlado. Cacaï *et al.* (2023) sugerem que o meio B5, quando suplementado com reguladores de crescimento como BAP, pode proporcionar um equilíbrio eficaz entre custos e produtividade, viabilizando sua aplicação em programas de micropropagação de *Ananas comosus*.

Os resultados apresentados nas Figuras 2, 3, 4 e 5 sublinham a importância de selecionar cuidadosamente a combinação de meio de cultura, concentração de BAP e condições de iluminação para otimizar o crescimento vegetativo das variedades de *Ananas comosus*. A variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* se mostra mais adequada para contextos de cultivo que requerem um rápido crescimento foliar e maior biomassa, enquanto *Ananas comosus* var. *erectifolius* pode ser preferida em cenários que demandam um crescimento mais controlado e equilibrado, favorecendo a frutificação. Santos (2023) suportam essas conclusões, indicando que o manejo adequado desses fatores pode levar a uma produção mais eficiente e de alta qualidade.

4.4 Resposta Diferencial das Variedades de *Ananas comosus* ao Crescimento Vegetativo: Uma Análise Detalhada das Condições de Cultivo e Aplicação de BAP em Meios MS e B5

Figura 8. Gráfico de dispersão dos Meios MS e B5 para as variáveis Altura Planta, Número de Folhas, Largura da Folha, Comprimento da Folha e Número de raízes em relação a variável independente Crescimento



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

A análise dos gráficos de dispersão que correlacionam as variáveis de crescimento (Altura da Planta, Número de Folhas, Largura da Folha e Comprimento da Folha) com o Crescimento Diário (cm/dia) para as variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* nos meios de cultivo MS e B5, em diferentes concentrações de BAP, oferece *insights* valiosos sobre o desenvolvimento dessas plantas sob diferentes condições de cultivo. A interpretação desses resultados à luz de estudos anteriores revela padrões

consistentes e diferenciais entre as duas variedades, destacando a influência do meio de cultura e da concentração de BAP no crescimento vegetativo.

1. Altura da Planta vs Crescimento (cm/dia)

O gráfico revela uma tendência clara de aumento da altura das plantas com o crescimento diário, especialmente na variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* cultivada no meio MS. Essa tendência indica que o meio MS pode proporcionar melhores condições para o alongamento das plantas, possivelmente devido a uma maior disponibilidade de nutrientes ou a uma melhor resposta ao BAP, como corroborado por Soriano *et al.* (2022), que observaram um comportamento semelhante em experimentos com *Ananas comosus* var. *erectifolius*, onde o meio MS, suplementado com reguladores de crescimento, favoreceu o alongamento das plantas.

2. Número de Folhas vs Crescimento (cm/dia)

No que diz respeito ao número de folhas, observa-se uma correlação positiva com o crescimento diário, particularmente acentuada na variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* no meio MS. Isso sugere uma maior eficiência dessa variedade em aproveitar os nutrientes e o BAP para aumentar a área foliar, o que é consistente com os resultados de Adjei *et al.* (2021), que destacam a importância do balanço adequado entre auxinas e citocininas para estimular a divisão celular e o desenvolvimento de novos tecidos foliares.

3. Largura da Folha vs Crescimento (cm/dia)

A largura das folhas também apresenta uma correlação positiva com o crescimento diário, sendo mais evidente na variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* no meio MS. Estudos como os de Dias *et al.* (2021) reforçam que a suplementação de citocininas no meio de cultura, como o BAP, pode estimular o aumento da largura foliar, especialmente em condições onde a disponibilidade de nutrientes e a concentração de hormônios são otimizadas.

4. Comprimento da Folha vs Crescimento (cm/dia)

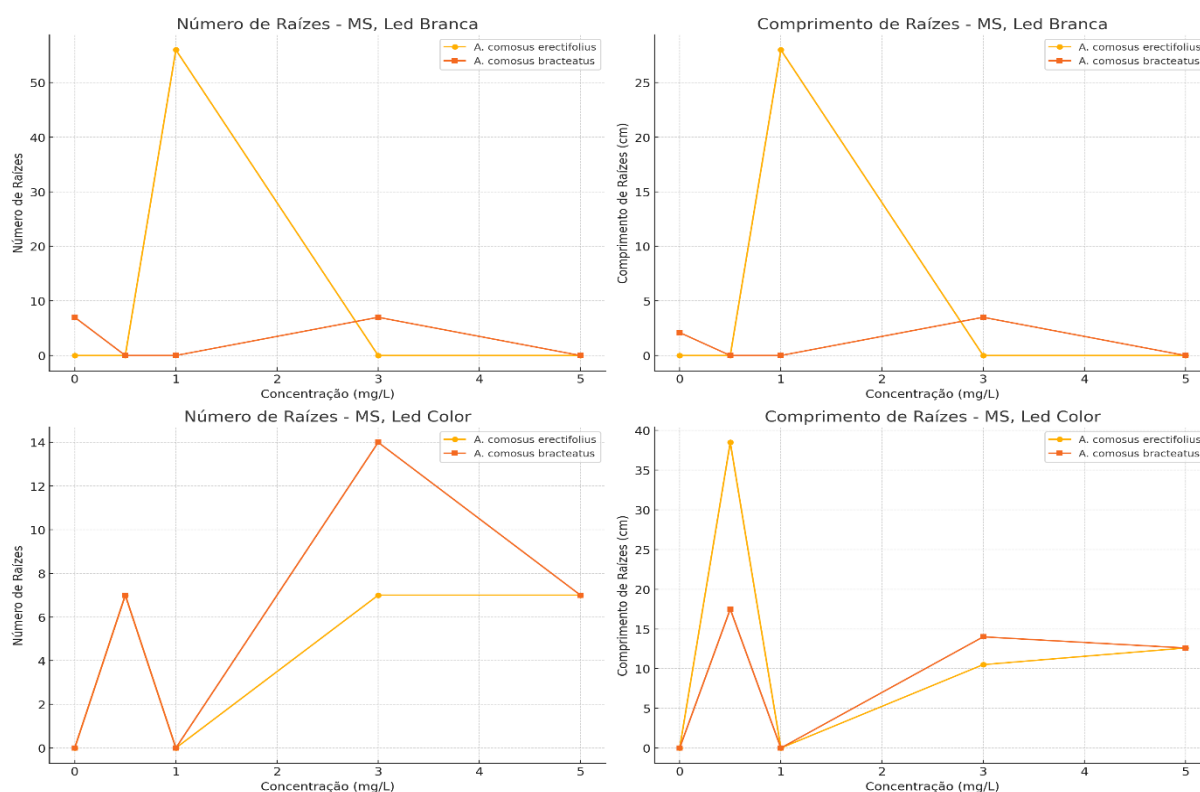
Por fim, o comprimento das folhas está claramente correlacionado com o crescimento diário, com as folhas mais longas associadas a taxas de crescimento mais altas. Novamente, *Ananas comosus* var. *bracteatus* no meio MS demonstra uma vantagem nesse aspecto, provavelmente devido à interação eficiente entre os nutrientes disponíveis no meio e o BAP, como sugerido por Almeida (2021), que observou que o meio MS, em combinação com BAP, pode promover o alongamento foliar de forma mais eficaz que outros meios.

Os resultados sugerem que a variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* responde de forma mais vigorosa ao meio MS, especialmente em termos de altura, número de folhas, largura e comprimento foliar, quando comparada à *Ananas comosus* var. *erectifolius*. Esse comportamento pode ser atribuído à capacidade da *Ananas comosus* var. *bracteatus* de utilizar mais eficientemente os nutrientes e o BAP presentes no meio de cultura. Em contraste, a *Ananas comosus* var. *erectifolius* apresenta um crescimento mais moderado, que pode ser preferível em situações onde se busca um controle maior do tamanho das plantas, como destacado por ALMEIDA *et al.* (2021).

Esses achados são consistentes com estudos prévios que demonstram que o meio MS, quando suplementado com reguladores de crescimento como o BAP, pode proporcionar condições mais favoráveis para o desenvolvimento vegetativo, enquanto o meio B5 tende a induzir um crescimento mais controlado e menos vigoroso.

4.5 Efeito da Iluminação e Concentrações de BAP no Enraizamento

Figura 9. Gráfico Efeito das Concentrações de BAP crescimento radicular em *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius* sob condições de luminosidades.



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

As concentrações de BAP (6-benzilaminopurina), uma citocinina amplamente utilizada em cultura de tecidos vegetais, afetam significativamente o desenvolvimento das raízes de *Ananas comosus* nas variedades estudadas, influenciando tanto a formação quanto o crescimento radicular e também exercem seu papel na promoção da divisão celular e no crescimento vegetativo, especialmente na parte aérea das plantas. No entanto, seus efeitos nas raízes podem ser complexos e, em certos casos, levar a resultados indesejáveis, dependendo da concentração utilizada tais como: Inibição do crescimento radicular, Redução na Formação de Raízes Adventícias, Alteração da Morfologia Radicular

A Inibição do Crescimento Radicular foi observada na análise dos gráficos indicando que concentrações mais elevadas de BAP inibem o crescimento das raízes, especialmente na variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius* em concentrações superiores a 1 mg/L. Este comportamento é corroborado por estudos como o de Aktas *et al.* (2023), que demonstraram que citocininas em altas doses tendem a promover o crescimento da parte aérea à custa do desenvolvimento radicular. Esse efeito é devido ao desequilíbrio hormonal entre citocininas e auxinas, que regulam o desenvolvimento de diferentes partes da planta.

Esse impacto é identificado nas variedades: A variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius* apresentou um pico significativo no número de raízes a 1 mg/L de BAP, com mais de 50 raízes formadas, mas esse número caiu drasticamente em concentrações mais altas. Estudos semelhantes, como os de Dias *et al.* (2021), relatam que esse tipo de resposta é comum em plantas expostas a desequilíbrios hormonais, levando a uma redução significativa na formação de raízes em concentrações mais elevadas. Em contraste, a variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* mostrou uma resposta mais estável, com um número de raízes relativamente constante, o que indica uma menor sensibilidade às variações de BAP.

Na análise do comprimento das raízes sob luz LED branca, a variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius* atingiu seu pico a 1 mg/L com raízes medindo mais de 25 cm, caindo consideravelmente em concentrações maiores de BAP. Este comportamento também foi observado por Almeida (2021), que discutiu como diferentes concentrações de BAP podem impactar o comprimento das raízes de diversas espécies, destacando a importância de se ajustar as concentrações para cada variedade específica. Já a variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* manteve um comprimento de raiz mais constante, refletindo uma resposta mais equilibrada e menos suscetível às variações de BAP.

Efeitos da luz LED Color: Quando as plantas foram cultivadas sob iluminação LED color, as diferenças entre as variedades tornaram-se ainda mais evidentes. A espécie *Ananas comosus* var. *erectifolius* mostrou um aumento no número de raízes a 3 mg/L, sugerindo que

a luz LED color pode moderar os efeitos negativos das altas concentrações de BAP, como mencionado por Ekin e Doğan (2024). Em contraste, a espécie *Ananas comosus* var. *bracteatus* manteve um padrão de resposta estável, com um número de raízes que aumentou levemente a 3 mg/L, mas sem grandes variações em concentrações maiores

LED Branca vs LED Color: A luz LED branca parece favorecer um maior número de raízes e um comprimento radicular mais expressivo em concentrações baixas de BAP. Por outro lado, a luz LED color proporcionou uma resposta mais equilibrada em concentrações intermediárias, o que pode ser particularmente vantajoso em cenários onde um desenvolvimento radicular controlado é desejado. Essas observações sugerem que a escolha entre os diferentes tipos de LED deve considerar os objetivos específicos do cultivo, seja para maximizar o crescimento radicular ou para manter um desenvolvimento mais controlado (EKIN e DOĞAN, 2024).

4.4 Influência Adversa do BAP na Regeneração de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*: Comparação dos Efeitos em Meios MS e B5 e Sob Condições de Luminosidade Variadas.

A análise das folhas quiméricas de *Ananas comosus* var. *bracteatus* revela que os efeitos inicialmente atribuídos à toxicidade do BAP podem estar relacionados a respostas fisiológicas específicas dessas folhas. Segundo Adjei *et al.* (2021), as folhas quiméricas apresentam uma estrutura anatômica complexa, composta por camadas de tecido diferenciadas, incluindo células de parênquima, colênquima e estruturas vasculares distintas.

Essa complexidade anatômica influencia diretamente a absorção e o metabolismo de hormônios exógenos, como o BAP, resultando em uma resposta que difere consideravelmente da observada em folhas não-quiméricas, o que pode explicar os sintomas atribuídos à toxicidade (ADJEI *et al.*, 2021).

As particularidades das folhas quiméricas, como a distribuição desigual de hormônios nos tecidos foliares, podem levar a interpretações equivocadas sobre os efeitos do BAP. Consequentemente, a adaptação dessas folhas a ambientes adversos, como alta luminosidade e secas, pode amplificar as respostas fisiológicas quando expostas a concentrações elevadas de BAP, exacerbando os efeitos adversos observados durante o cultivo *in vitro*.

As variações epigenéticas, discutidas por Lin *et al.* (2023), que impactam a regulação da expressão gênica e os fenótipos observados, como a clorose, também podem contribuir

para essas respostas diferenciadas. Portanto, a suposta toxicidade do BAP deve ser reconsiderada à luz das interações complexas entre as condições de cultivo e as características fisiológicas específicas das folhas quiméricas, conforme indicado pelas respostas diferenciadas observadas em estudos anteriores (LIU *et al.*, 2020; SORIANO *et al.*, 2022; LIN *et al.*, 2023)

O estudo conduzido por Feng *et al.* (2022) sobre o genoma de *Ananas comosus* var. *bracteatus* f. *tricolor* corrobora essa interpretação, ao evidenciar que as folhas quiméricas possuem características fisiológicas específicas derivadas de sua composição genética única. Essas características influenciam as respostas das plantas ao estresse ambiental, incluindo a exposição a reguladores de crescimento como o BAP. A interação sinérgica entre os tecidos verdes e brancos das folhas quiméricas pode resultar em respostas morfogênicas diferenciadas, que em outros contextos poderiam ser interpretadas como toxicidade, mas que, na realidade, refletem a complexidade da fisiologia dessas plantas (FENG *et al.*, 2022).

Portanto, ao invés de tratar os efeitos observados como toxicidade pura, é mais adequado considerar esses resultados como reflexos das particularidades fisiológicas das folhas quiméricas em resposta à suplementação com BAP. A revisão das concentrações de BAP ou a substituição por outros reguladores de crescimento devem ser consideradas ao trabalhar com essas variedades quiméricas para evitar efeitos adversos indesejados. Essas descobertas destacam a importância de uma compreensão aprofundada das interações entre as condições de cultivo e as características fisiológicas das plantas, permitindo ajustes que potencializem a eficiência do cultivo *in vitro* e garantam a qualidade das plântulas regeneradas (ADJEI *et al.*, 2021; FENG *et al.*, 2022;).

5.0 CONCLUSÕES

O presente estudo evidenciou a importância de variáveis como iluminação e concentração de BAP na regeneração *in vitro* de plântulas de *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. Os resultados indicaram que a combinação de meio de cultura B5 com iluminação LED branca proporcionou as melhores condições para a regeneração de brotos, confirmando sua superioridade em relação ao meio MS. A concentração de BAP desempenhou um papel crítico na indução de calos e brotos, com concentrações entre 5 e 10 mg/L sendo as mais eficazes. No entanto, a aplicação de concentrações mais elevadas de BAP revelou efeitos inibitórios no crescimento radicular e no desenvolvimento morfológico das plântulas, sugerindo a necessidade de um controle rigoroso dos parâmetros de cultivo.

A luz branca mostrou-se essencial para a promoção da fotossíntese e o desenvolvimento saudável das plântulas, enquanto a luz LED color apresentou resultados menos satisfatórios, especialmente em termos de taxa de regeneração e crescimento. As diferenças observadas entre as variedades *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus* também destacam a importância de adaptar os protocolos de micropropagação às características específicas de cada variedade, visando otimizar o rendimento e a qualidade das plântulas produzidas.

Esses achados fornecem uma base sólida para a aplicação prática das técnicas de micropropagação e regeneração *in vitro* em programas de cultivo comercial e conservação de germoplasma. Além disso, o estudo abre caminho para futuras pesquisas voltadas à otimização dos processos de cultivo e à exploração de novas condições experimentais que possam melhorar ainda mais a eficiência da propagação dessas variedades ornamentais de abacaxi.

6.0 REFERÊNCIAS

- ADJEI, M.O. *et al.* (2021) **Adventitious root primordia formation and development in the stem of *Ananas comosus* var. *bracteatus* slip.** Plant Signaling & Behavior, v.16, n.11, p.e1949147, 2021.
- AHMAD S. *et al* (2024) **Efficient in-vitro regeneration protocol for large-scale propagation of Aloe vera (L.) Burm.f.,**Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, Volume 43, 2024, 100588, ISSN 2214-7861, <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2024.100588>.
- AKTAS. (2023) **Micropropagation of Lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] Leaf Explants and Single Nodes in Response to Plant Growth Regulators**, 2023.
- ALI, M. M., *et al.* **Pineapple (*Ananas comosus*): A comprehensive review of nutritional values, volatile compounds, health benefits, and potential food products.** *Food Research International*, v. 137, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109675>.
- ALMEIDA, M. do R. A. de. (2021) **Estratégias de propagação vegetativa em cultivares comerciais de abacaxizeiros [*Ananas comosus* (L.) Merr.]**. Cruz das Almas, Bahia, 2021.
- AWERE, C. O., *et al.* (2024) **Micropropagation, genetic fidelity and chromatographic analysis in *Evolvulus alsinoides* (L.): A potent multipurpose medicinal plant.** *Industrial Crops & Products*, v. 213, p. 118444, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118444>.
- BARBOZA, T. J. S.; LAGE, D. A.; MOSS, V. B.; SOUZA, C. A.; ALBARELLO, N. (2014) **Efeito de diferentes meios nutritivos e fitorreguladores visando à otimização da calogênese de *Annona mucosa* (Jacq.)**. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.16, n.4,

p.1-10, dez. 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_117. Acesso em: 27 ago. 2024.

BHAT, M. H., *et al.* (2022) **Development of an efficient micropropagation system for *Dioscorea bulbifera* L. and phytochemical profile of regenerated plants.** *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, v. 20, n. 107, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s43141-022-00382-9>.

CACAI, G.H.T., *et al* (2023) **Plant Regeneration through Indirect Organogenesis in Two Cultivars of Pineapple (*Ananas comosus* L.).** *Open Journal of Applied Sciences*, 13, 1039-1058. <https://doi.org/10.4236/ojapps.2023.137083>

CARVALHO, A.C.P.P.; BRAGA, E.P.; SANTOS, M.R.A.; MORAIS, J.P.S. (2019) **Caderno Embrapa: Híbridos de Abacaxizeiro.** Embrapa Agroindústria Tropical, 2019.

CHEN, X. *et al.* (2020) **Conventional seed coating reduces prevalence of proteobacterial endophytes in *Nicotiana tabacum*.** *Industrial Crops and Products*, v.155, p.112784, 2020.

COLOMBO, R. C., *et al.*(2017) **Aclimatização e crescimento de mudas de abacaxi ornamental em substratos orgânicos.** *Ornamental Horticulture*, v. 23, n. 3, p. 367-372, 2017. Disponível em: <https://ornamentalthorticulture.com.br/rbho/article/view/1040>.

DA SILVA, G. M *et al* (2022) **Influence of wavelength and intensity of LED lights and cytokinins on the growth rate and concentration of total cardenolides in *Digitalis mariana* Boiss.heywoodii** (P. SiCulture of plant cells, tissues and organs (PCTOC). <https://doi.org/10.1007/s11240-022-023-1>

DAL VESCO, L. L. *et al* (2014) ***In vitro* propagation of *Vriesea reitzii*, a native epiphyte bromeliad.** *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* (2014) 89 (5) 542–548. DOI: 10.1080/14620316.2014.11513118

DIAS, G. J. S. (2021) **Multiplicação in vitro de bromélias *Aechmea aquilega* e *Bromelia balansae*.** Monografia, Instituto Federal Goiano, Ceres, 2021.

EKIN. U., DOGAN. M (2024), **Enhancing in vitro micropropagation of *Alternanthera reineckii* Briq. using various light-emitting diodes, culture media and plant growth regulators,** *Kuwait Journal of Science*, Volume 51, Issue 3, 2024, 100250, ISSN 2307-4108, <https://doi.org/10.1016/j.kjs.2024.100250>.

FENG, L. *et al* (2022), J. **The highly continuous reference genome of a leaf-chimeric red pineapple (*Ananas comosus* var. *bracteatus* f. *tricolor*) provides insights into elaboration of leaf color.** *G3: Genes|Genomes|Genetics*, v.12, n.2, p.jkab452, 2022. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab452>.

GARCIA, F. R.; NEPOMUCENO, C.F.; ROCHA, M.A.C.; BRITO, A.L.; SANTANA, J.R.F.(2021) **Micropropagation of Aechmea miniata and Aechmea blanchetiana**. Rodriguésia, v.72, p.e01322018, 2021. DOI: <http://doi.org/10.1590/2175-7860202172037>.

GUERRA, F.; CAUTÍN, R.; CASTRO, M. (2024) **In Vitro Micropropagation of the Vulnerable Chilean Endemic Alstroemeria pelegrina L.** Horticulturae 2024, 10, 674. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10070674>.

IQBAL, M. *et al.* (2016) **In Vitro Study of Callogenesis and Regeneration Potential of Elite Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars**. Pakistan Journal of Botany, 2016.

JUNGHANS. T. G. *et al.* (2015) **Seed germination of three pineapple progenies in different temperature regimes**. PERSPECTIVA, Erechim. v. 39, n.147, p. 61-67, setembro/2015

KHAN, M.A.; RABBANI, G.; MUNIR, N.; KAUSAR, T.; ABBAS, M. (2019) **In vitro regeneration, micropropagation and biochemical profiling of *Mentha longifolia***. Journal of King Saud University - Science, v.31, n.4, p.998-1005, 2019.

LAMEIRA, O. A.; CORDEIRO, I. M. C. C. **Cultivo de curauá**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2023

LIN, C. O *et al.* (2023) **Mecanismo Sinérgico de Fotossíntese e Metabolismo Antioxidante entre os Tecidos Verde e Branco de Ananas comosus var. bracteatus Folhas Quiméricas**, 2023.

LIU, W.; SUN, S.; WEI, Z. (2020) **Linking phytogenic hillocks with plant ecological strategies in a desert steppe: adaptation of *Stipa breviflora* to heavy grazing**. Ecological Indicators, v.117, p.106564, 2020. DOI: 10.1016/j.ecolind.2020.106564.

LONG, R.L.*et al.* (2015) **The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise**. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, v.90, n.1, p.31-59, 2015. DOI: 10.1111/brv.12095.

MOHAMMAD A. M., *et. al.*, (2024) **A highly efficient organogenesis system based on 6-benzylaminopurine and indole-6-butyric acid in *Suaeda glauca*-a medicinal halophyte under varying photoperiods**, Industrial Crops and Products, Volume 216, 2024. 118672, ISSN 0926-6690, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118672>.

MURASHIGE.T & SKOOG F. (1962). **Um meio revisado para crescimento rápido e bioensaios com culturas de tecidos de tabaco**. Publicado pela primeira vez: Julho de 1962 <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

PAIXÃO, J. A. da (2023) **Composição química, compostos fenólicos e atividade antioxidante de acessos de Ananas comosus oriundos do BAG abacaxi**. Tese de Doutorado – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química, 2023. Salvador, 2023.

PANG, W. Q. *et al.* (2023) **Establishment of an efficient micropropagation protocol for Cameron Highlands White Strawberry (*Fragaria x ananassa*) using a light emitting diode (LED) system**, South African Journal of Botany, Volume 157, 2023, Pages 189-200, ISSN 0254-6299, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.03.061>.

REINHARDT, D. H. R. C., *et al.* (2018) **Advances in pineapple plant propagation**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 40, n. 6, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-29452018302>.

SANTOS, R.A.C. **Micropropagação in vitro do abacaxizeiro ‘Turiaçu’ cultivado no município de Itacoatiara-AM** (2023). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, Programa de Pós-Graduação Agricultura no Trópico Úmido.

SANTOS, I. R. I.; SALOMAO, A. N. (2023) **Guia prático de criopreservação: técnicas aplicadas à conservação de germoplasma vegetal**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

SILVA-MORAES, V. K. D. O. *et al.* (2024). **Enhancing microshoot regeneration in "Turiaçu" pineapple through nodular cluster induction with putrescine**. *Revista Sul-Africana de Botânica*, 173, 312-319. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.08.023>

SORIANO, L. *et al.* (2022) **In vitro rhizogenesis of *Ananas comosus* var. *erectifolius* under influence of synthetic auxins**. Research, Society and Development, v.11, n.5, p.e35511528055, 2022.

TORRES, D. A. P.; SANTOS, G. S.; GERUM, A. F. A. de A.; SANTANA, M. do A. ORRES, D. A. P. (ed.). (2022) **Bioeconomia aplicada a pequenos e médios produtores e a pequenas e médias empresas**. In: TORRES, D. A. P. (ed.). Bioeconomia: oportunidades para o setor agropecuário. Brasília, DF: Embrapa, 2022. p. 115-175.. Brasília, DF: Embrapa, 2022. p. 115-175.

VÁSQUEZ-JIMÉNEZ, J., *et al.* (2023). **Optimizing agronomic practices for pineapple (*Ananas comosus* (L). Merr. ‘MD-2’ cultivar) production based on growth stages**. Fruits. <https://doi.org/10.17660/th2023/011>

Capítulo 4 – Estratégias para Indução de Calos Friáveis em *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*: Desafios e Perspectivas Biotecnológicas.

Antonia Neidilê Ribeiro Munhoz
Doutoranda em Biotecnologia, PGBIOTEC-UFAM
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia no Amazonas-IFAM
Av. Sete de Setembro, 1975 - Centro, Manaus - AM, 69020-120
Email: neidile.munhoz@ifam.edu.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2706-1028>

Luiz Antonio Oliveira
Doutor em Ciências do Solo
Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Endereço: Av. André Araújo, 2936, Petrópolis, Manaus, CEP: 69067-375, Amazonas
Email: luiz.oliveira@inpa.gov.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2008-7292>

Daniel da Silva
Doutor em Biotecnologia e Biodiversidade
Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Endereço: Av. André Araújo, 2936, Petrópolis, Manaus, CEP: 69067-375, Amazonas
Email: daniel.silva@inpa.gov.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9217-4213>

Paulo de Tarso Barbosa Sampaio
Doutor em Ciências Florestais
Instituição: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Endereço: Av. André Araújo, 2936, Petrópolis, Manaus, CEP: 69067-375,
Email: sampaio@inpa.gov.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0254-7651>

Resumo

Este artigo aborda a indução de calos friáveis em duas variedades específicas de abacaxi ornamental, *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, destacando os desafios encontrados e as perspectivas para otimização dos protocolos de cultura in vitro. Através de experimentos, verificou-se que as condições de cultivo e a composição do meio de cultura desempenham um papel crucial na eficiência da indução de calos. A variedade *erectifolius* demonstrou maior sucesso na indução de calos em comparação à variedade *bracteatus*, que apresentou características fisiológicas indesejáveis. A pesquisa sugere ajustes na concentração de reguladores de crescimento e nas condições ambientais, além de propor protocolos baseados em estudos anteriores e colaborações futuras. A aplicação dos resultados é relevante tanto para a biotecnologia vegetal quanto para a conservação dessas variedades.

Palavras-chave: *Ananas comosus*, cultura de tecidos, calos friáveis, indução de calos, biotecnologia vegetal, regulação de crescimento.

Abstract:

This article addresses the induction of friable callus in two specific ornamental pineapple varieties, *Ananas comosus* var. *erectifolius* and *Ananas comosus* var. *bracteatus*, highlighting the challenges encountered and the perspectives for optimizing in vitro culture protocols. Through experiments, it was observed that the cultivation conditions and culture media composition play a crucial role in the efficiency of callus induction. The *erectifolius* variety showed greater success in callus induction compared to the *bracteatus* variety, which presented undesirable physiological characteristics. The research suggests adjustments in growth regulator concentrations and environmental conditions, and proposes protocols based on previous studies and future collaborations. The application of these results is relevant for both plant biotechnology and the conservation of these varieties.

Keywords: *Ananas comosus*, tissue culture, friable callus, callus induction, plant biotechnology, growth regulation.

1.0 INTRODUÇÃO

As plantas, desde tempos remotos, têm sido reconhecidas por seu valor etnofarmacológico, desempenhando um papel crucial na saúde humana devido à sua capacidade de sintetizar uma ampla gama de compostos orgânicos, conhecidos como metabólitos secundários. Esses compostos, derivados do metabolismo primário, são essenciais não apenas para a adaptação das plantas ao seu ambiente, mas também têm sido amplamente utilizados na indústria farmacêutica, evidenciando a importância dessas substâncias na medicina moderna (SRIVASTAVA, SINGH, & CHATURVEDI, 2020).

Com o avanço das técnicas de cultura de tecidos vegetais, uma nova plataforma de estudo in vitro emergiu, permitindo a manipulação e otimização de culturas celulares para diferentes finalidades. A cultura de tecidos é dividida em duas grandes categorias: culturas organizadas e não organizadas. Enquanto as culturas organizadas mantêm estruturas definidas, as culturas não organizadas, como a calogênese, focam na produção de massas celulares indiferenciadas chamadas calos. O sucesso dessas culturas depende fortemente da composição do meio de cultivo, que deve ser cuidadosamente ajustada para atender às necessidades específicas dos explantes e ao objetivo da pesquisa (BHATIA, 2015).

Nos últimos anos, a biotecnologia aplicada ao cultivo de tecidos vegetais ganhou destaque, especialmente no contexto da produção em larga escala de metabólitos secundários e na conservação da biodiversidade. A cultura de calos, por exemplo, permite a produção controlada de fitoquímicos e anticorpos terapêuticos, oferecendo uma alternativa viável e

sustentável à extração direta de plantas da natureza. Essa técnica é particularmente valiosa na medicina tradicional, incluindo a medicina chinesa, onde os produtos naturais são preferidos em relação aos sintéticos (EFFERTH, 2019).

O processo de indução de calos envolve a desdiferenciação celular, onde células maduras perdem sua especialização e retornam a um estado indiferenciado. Este processo, induzido por hormônios como auxinas e citocininas, permite a formação de calos a partir de explantes vegetais, que podem ser posteriormente utilizados para diversas aplicações, como a regeneração de plantas inteiras ou a produção de compostos bioativos em biorreatores. A manipulação adequada desses fatores hormonais é crucial para garantir a viabilidade e o crescimento dos calos, tornando-se um dos principais desafios e ao mesmo tempo um dos maiores potenciais da cultura de tecidos vegetais (HALIWELL, 2022; FALLAR, YUSEFITANHA, PERALTA-VIDEA, 2024).

Manter culturas de calos *in vitro* requer cuidados contínuos, incluindo subculturas regulares para evitar a diferenciação indesejada e a contaminação. Quando bem-sucedidas, essas culturas podem ser mantidas indefinidamente, oferecendo uma fonte constante de células para estudos posteriores. Além disso, as culturas de calos friáveis, que apresentam células pouco aderidas umas às outras, são particularmente úteis na produção de culturas de suspensão celular, essenciais para a escalabilidade industrial (ADIL, JEONG, 2018; MOSHTAGHI, 2020).

A cultura de tecidos vegetais, portanto, representa uma interface vital entre a ciência básica e as aplicações comerciais, oferecendo soluções inovadoras para a produção sustentável de plantas bioengenheiradas e compostos bioativos de alto valor agregado. A crescente demanda por produtos naturais, aliada ao avanço da biotecnologia, destaca a importância de continuar explorando e desenvolvendo técnicas de cultura de tecidos para atender às necessidades futuras da humanidade (SRIVASTAVA, SINGH, CHATURVEDI, 2020; FORESTO *et al.*, 2021).

O estudo de variedades específicas de *Ananas comosus*, como as variedades *bracteatus* e *erectifolius*, é de grande importância para a bioprospecção e regeneração, dada a relevância ecológica e econômica dessas plantas. *Ananas comosus* var. *bracteatus* é notável por seu uso ornamental, enquanto *Ananas comosus* var. *erectifolius*, conhecida como curauá, é amplamente reconhecida por suas fibras de alta qualidade, que são empregadas em diversas indústrias, desde a têxtil até a automotiva. Além disso, ambas as variedades possuem potencial medicinal e ecológico, o que justifica a necessidade de estudos aprofundados para explorar e otimizar suas aplicações biotecnológicas (LIU, ZHANG, HE, 2022; CAMPELO *et al.*, 2021).

Diante disso, a indução de calos nessas variedades tem se mostrado um desafio significativo. Esse processo é essencial para a regeneração e manipulação genética das plantas, mas as respostas *in vitro* muitas vezes variam dependendo do tipo de explante, meio de cultura e condições ambientais, como luz e temperatura. Além disso, a variabilidade nos resultados sugere que fatores como a origem do explante e a composição do meio podem influenciar drasticamente a qualidade e a viabilidade dos calos induzidos, indicando a necessidade de uma análise criteriosa e de inovações metodológicas para superar essas barreiras (EFFERTH, 2019; BHATIA, 2015).

Dado o potencial econômico e as aplicações industriais dessas variedades, compreender os fatores limitantes na indução de calos é essencial para aprimorar as técnicas de cultura de tecidos em *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*. A calogênese é influenciada por variáveis como composição do meio de cultura e concentrações hormonais, onde o equilíbrio inadequado entre auxinas e citocininas pode resultar em necrose ou crescimento anômalo dos tecidos (BEHERA *et al.*, 2024; LEWTAK *et al.*, 2024). Estudos recentes têm demonstrado que a composição genética e as condições fenológicas.

A indução de calos é um processo crucial para a regeneração e manipulação genética de plantas, porém, enfrenta diversos desafios, especialmente em variedades específicas como *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*. Entre os fatores limitantes mais críticos estão a composição do meio de cultura, que deve ser rigorosamente ajustada para suportar a diferenciação celular, e a concentração de reguladores de crescimento, como auxinas e citocininas, que têm um impacto direto na viabilidade dos calos. A escolha e a concentração desses reguladores são essenciais para o sucesso da calogênese, pois o equilíbrio inadequado pode levar à falta de resposta ou a respostas morfogênicas indesejadas, como necrose ou crescimento anômalo dos tecidos (EKIN e DOGAN, 2024).

Além da composição do meio e dos reguladores de crescimento, as condições ambientais como temperatura, luz e a origem dos explantes também desempenham papéis fundamentais na indução de calos. Por exemplo, estudos anteriores demonstraram que a variação na origem dos explantes e a exposição a ambientes inadequados podem resultar em baixa taxa de indução e em calos de baixa qualidade, comprometendo todo o processo regenerativo (BEHERA *et al.*, 2024; EKIN e DOGAN, 2024).

Esses desafios são particularmente relevantes, nas variedades *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*, onde as condições ideais de cultivo permanecem indefinidas, destacando a necessidade de mais investigações. Pesquisas

detalhadas são fundamentais para estabelecer protocolos eficientes que assegurem uma produção consistente e de qualidade. A literatura recente evidencia que a adaptação das condições experimentais pode superar as limitações atuais, promovendo avanços significativos na cultura de tecidos (LEWTAK *et al.*, 2024)

Diante dessas limitações, o objetivo deste artigo foi identificar e analisar os fatores que dificultam a indução de calos nessas variedades específicas e explorar abordagens inovadoras para superar esses desafios. A proposta de novas metodologias, baseadas em ajustes finos dos parâmetros culturais e na introdução de técnicas biotecnológicas avançadas, será fundamental para o avanço das técnicas de cultura *in vitro* para *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*, contribuindo assim para a expansão de suas aplicações biotecnológicas e comerciais.

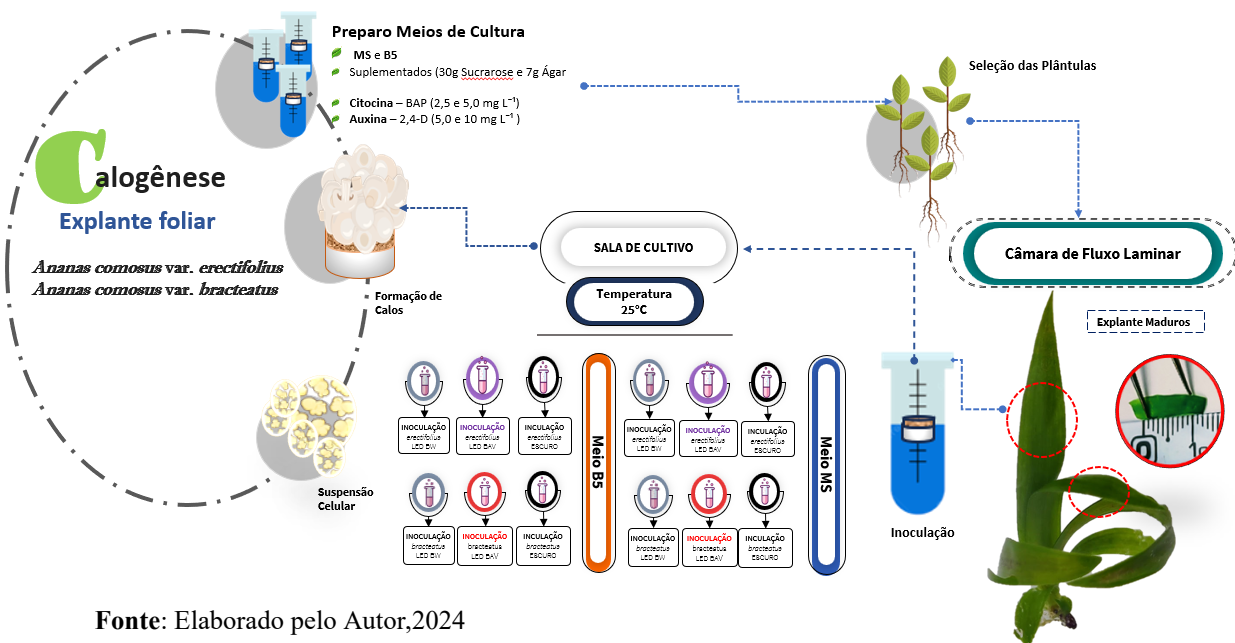
2.0 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção e Preparo do Material Vegetal

Origem e Seleção dos Explantes

Explantes foliares de *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius* foram obtidos de plântulas previamente estabelecidas *in vitro* durante a fase de germinação. As plântulas foram cultivadas em condições controladas, e folhas jovens e saudáveis foram selecionadas para o experimento.

Figura 1 – Esquema do Experimento Calogênese das variedades *Ananas comosus bracteatus* e *Ananas comosus erectifolius* suplementados com elicitores sob condições de luminosidade diferentes.



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

Essas folhas foram cuidadosamente excisadas com lâminas estéreis e desinfetadas superficialmente usando uma solução de hipoclorito de sódio a 2% por 15 minutos, seguida de três lavagens em água destilada estéril. Após a desinfecção, os explantes foram cortados em segmentos de aproximadamente 3 cm² antes de serem inoculados nos meios de cultura (BASTOS *et al.*, 2015).

2.2 Meios de Cultura Utilizados

Foram utilizados dois meios de cultura: o meio MS (Murashige e Skoog, 1962) e o meio B5 (Gamborg *et al.*, 1968). A formulação do meio MS incluiu macronutrientes, micronutrientes, vitaminas e sacarose a 30 g L⁻¹, enquanto o meio B5 foi suplementado com piridoxina (1 mg L⁻¹), mio-inositol (100 mg L⁻¹), tiamina (10 mg L⁻¹) e ácido nicotínico (1 mg L⁻¹), além dos componentes presentes na formulação original. Todos os meios foram solidificados com 7,0 g L⁻¹ de ágar e o pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C por 20 minutos (BASTOS *et al.*, 2015; IQBAL *et al.*, 2016).

2.3 Reguladores de Crescimento Vegetal

A indução de calos foi conduzida utilizando diferentes concentrações dos reguladores de crescimento 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxyacético) e BAP (6-benzilaminopurina), que são essenciais para a regulação do crescimento celular e diferenciação em tecidos vegetais. Estes reguladores são amplamente utilizados em estudos de cultura de tecidos devido à sua eficácia comprovada na indução de calos, especialmente em monocotiledôneas como o *Ananas comosus*.

As concentrações testadas no experimento foram as seguintes:

- **T1:** 5,0 mg L⁻¹ de 2,4-D + 2,5 mg L⁻¹ de BAP
- **T2:** 5,0 mg L⁻¹ de 2,4-D + 5,0 mg L⁻¹ de BAP
- **T3:** 10 mg L⁻¹ de 2,4-D + 2,5 mg L⁻¹ de BAP
- **T4:** 10 mg L⁻¹ de 2,4-D + 5,0 mg L⁻¹ de BAP

A combinação de 2,4-D e BAP foi escolhida com base na literatura que demonstra sua sinergia na indução de calos, onde o 2,4-D atua predominantemente como uma auxina sintética promovendo a desdiferenciação celular, enquanto o BAP, uma citocinina, é responsável por estimular a divisão celular e a formação de calos. As diferentes concentrações foram escolhidas para testar a variação na resposta dos explantes às diferentes proporções

desses reguladores, visando identificar a combinação mais eficiente para a indução de calos de alta qualidade em *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*.

2.4 Condições de Incubação

As culturas foram incubadas a 25 ± 2 °C, em três condições de luminosidade: escuridão total, luz LED azul-vermelha (470 nm e 660 nm) e luz LED branca (530 nm). O fotoperíodo foi de 16 horas de luz e 8 horas de escuridão, com intensidade luminosa de $31 \pm 1 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Essas condições visam simular ambientes que maximizem a produção de calos e minimizem a interferência da fotomorfogênese.

2.5 Análise da Qualidade dos Calos

A análise da qualidade dos calos foi realizada após 30 dias de cultivo, considerando a porcentagem da área ocupada pelos calos e características como cor e textura. Os calos friáveis e compactos foram registrados, bem como a presença de necrose ou anomalias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em fatorial $2 \times 2 \times 3$ (duas variedades, dois meios de cultivo MS e B5, três condições de luminosidade) com 9 (nove) repetições por tratamento, totalizando 216 explantes (BASTOS *et al.*, 2015; IQBAL *et al.*, 2016)

3.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

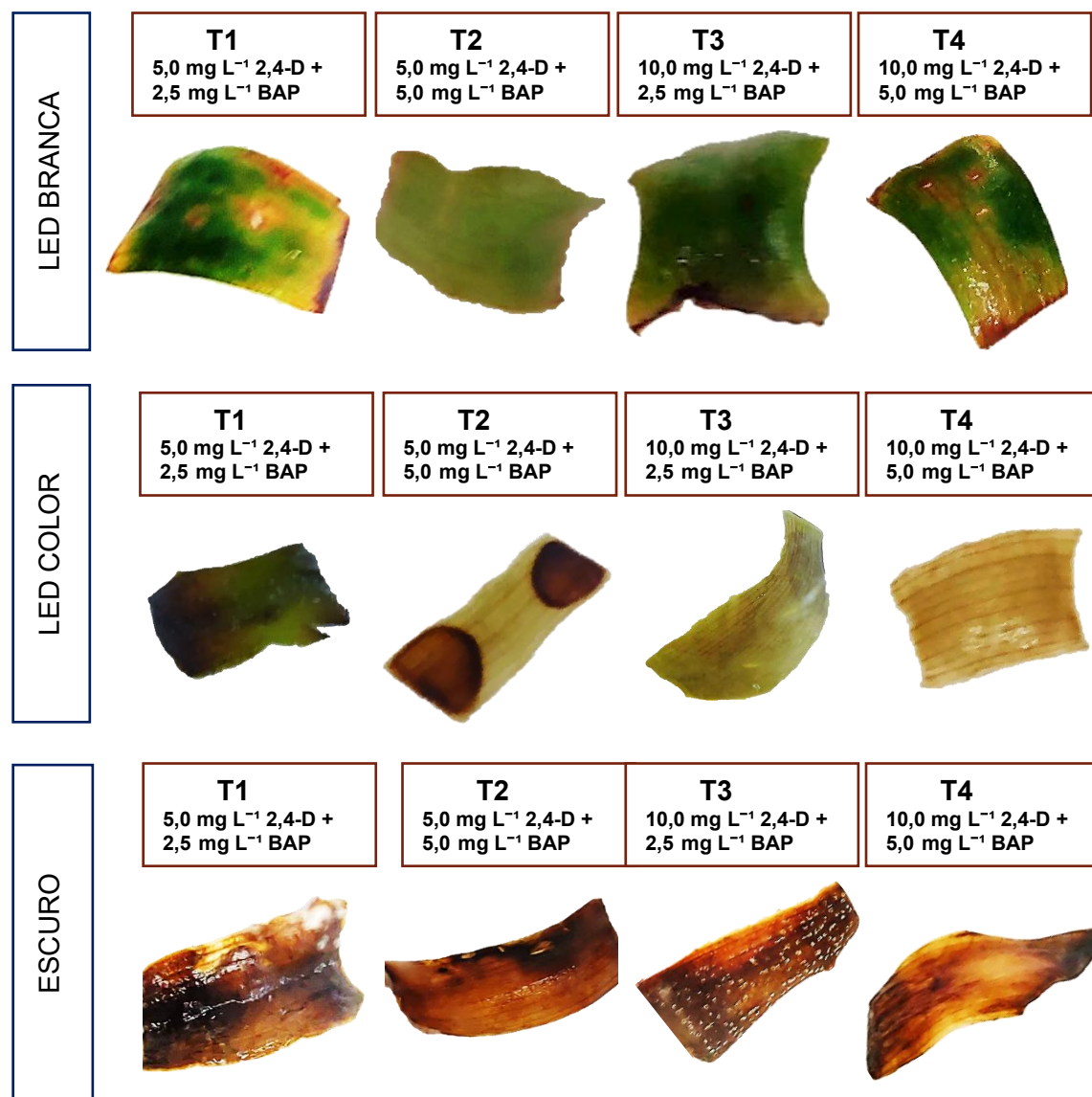
3.1 Identificação dos Fatores Limitantes

Análise dos Meios de Cultura:

Os resultados obtidos nos experimentos demonstraram claramente que as diferentes formulações de meios de cultura impactaram de forma significativa a indução de calos nos explantes de *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*. O meio MS se mostrou mais eficaz em promover a indução de calos em comparação ao meio B5, corroborando estudos prévios que indicam a superioridade do MS em culturas de tecidos de monocotiledôneas.

No entanto, apesar da indução de calos em ambos os meios, os explantes apresentaram características indesejáveis, como vitrificação, senescência precoce e perda de clorofila. A vitrificação, em particular, pode estar associada a um desbalanço osmótico ou a uma alta concentração de sais no meio, o que interfere na formação de estruturas celulares saudáveis (IQBAL *et al.*, 2016; AMINI *et al.*, 2023; CHANDIMALL, 2024).

Figura 2 – Efeitos indesejáveis no processo de Calogênese de *Ananas comosus* var. *erectifolius* em Meio MS suplementado com 2,4D + BAP sob condições de luminosidade



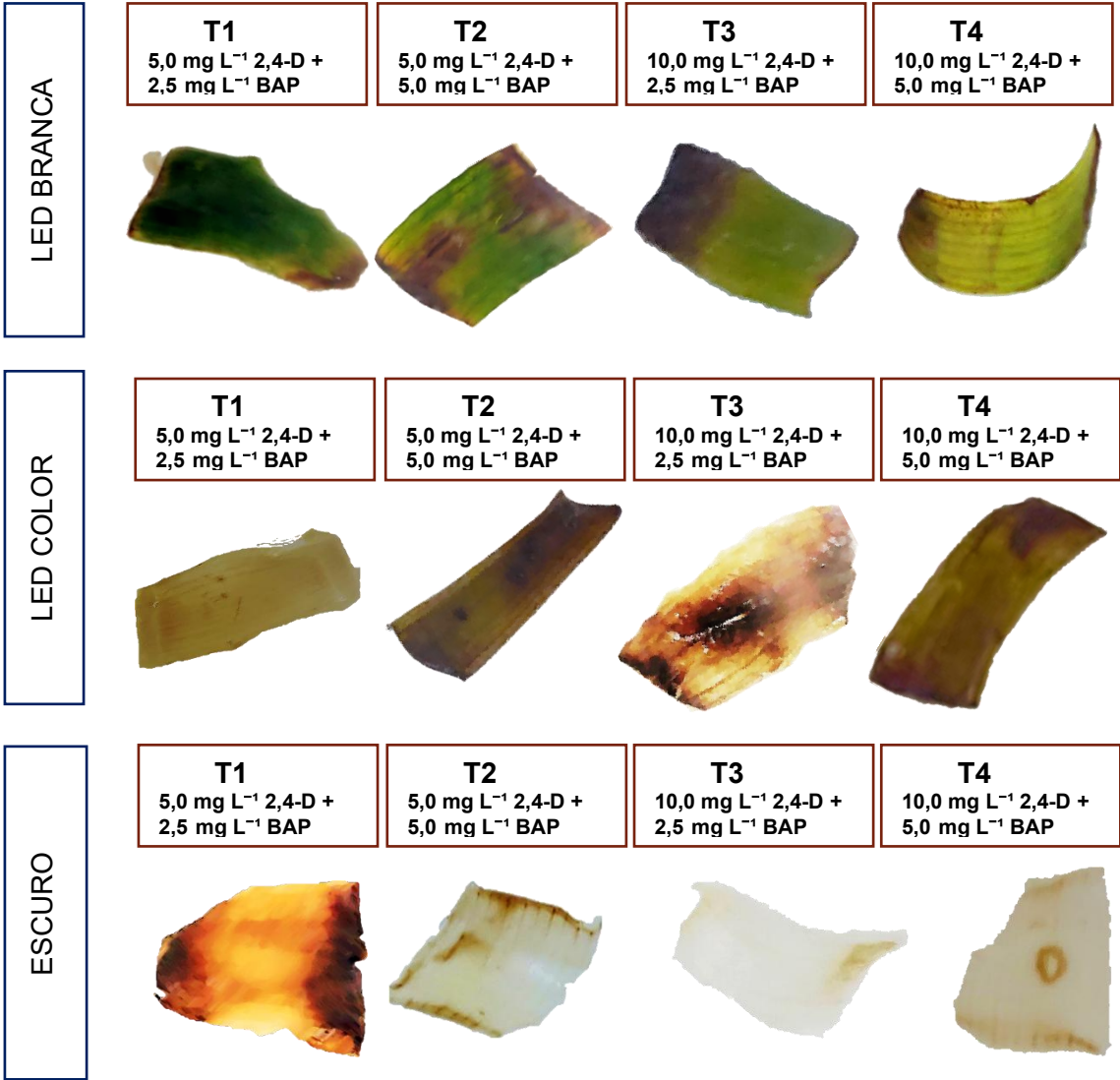
Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

Em relação aos reguladores de crescimento, a combinação de 2,4-D e BAP foi essencial para a indução de calos. No entanto, as concentrações utilizadas nem sempre promoveram calos de qualidade. Constatou-se que concentrações mais elevadas de 2,4-D (10 mg L⁻¹) favoreceram o desenvolvimento de calos, porém causaram rigidez nos tecidos, um efeito potencialmente atribuído ao excesso de auxinas, que causam alterações na parede celular.

A senescência precoce e a perda de clorofila podem estar relacionadas ao desequilíbrio entre auxinas e citocininas, exacerbando o envelhecimento celular e

prejudicando a viabilidade dos explantes. Nas condições de escuro e sob luz LED color, esses efeitos foram mais pronunciados, sugerindo que ajustes nas concentrações dos reguladores são cruciais para melhorar os resultados. (IQBAL *et al.*, 2016; AMINI *et al.*, 2023).

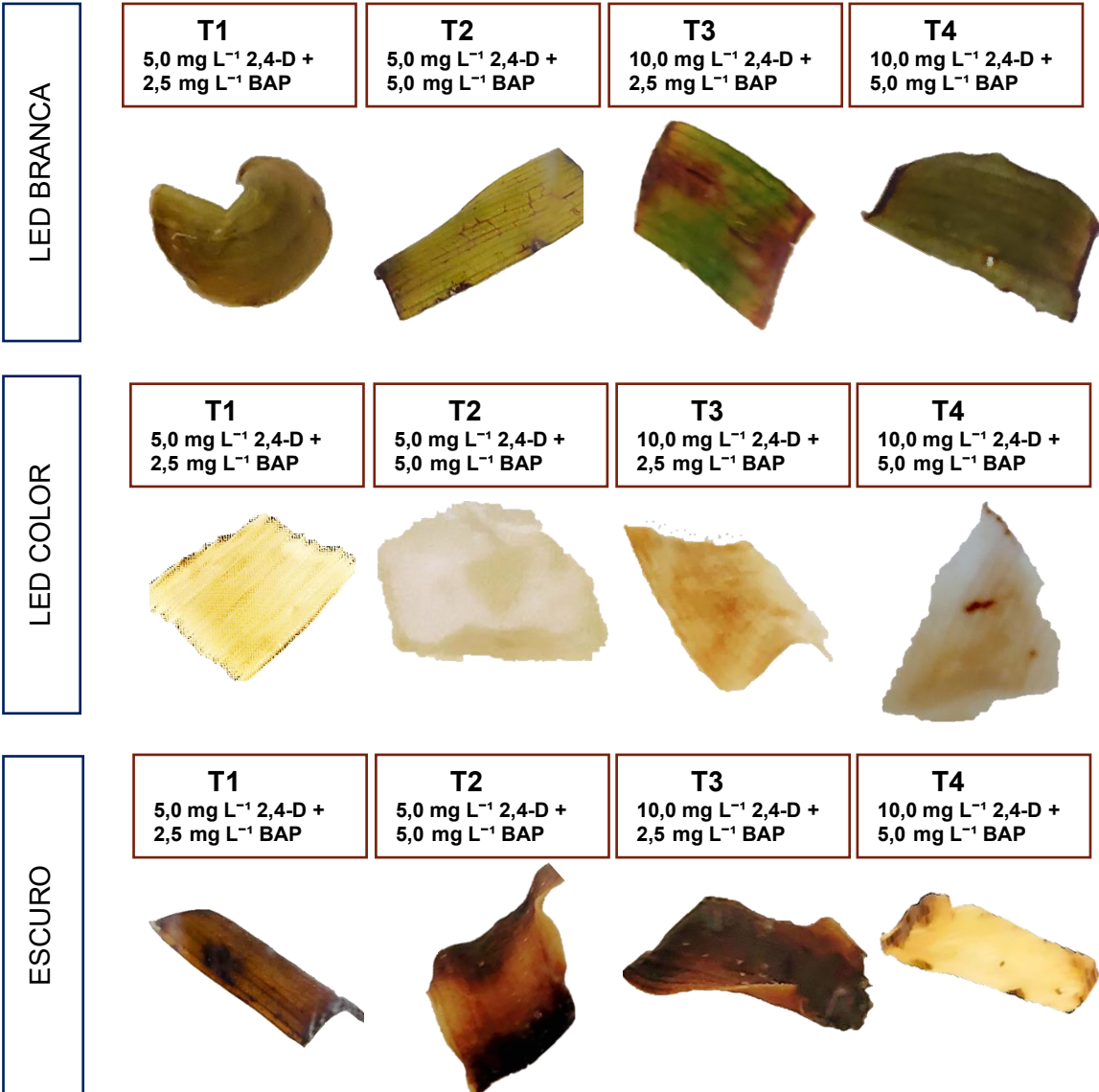
Figura 3 – Efeitos indesejáveis no processo de Calogênese de *Ananas comosus* var. *bracteatus* em Meio MS suplementado com 2,4D + BAP sob condições de luminosidade



Fonte: AUTOR, 2024

As condições ambientais também exerceram um papel significativo na viabilidade dos explantes e na qualidade dos calos. As figuras 02, 03, 04 e 05 indicam que os explantes cultivados sob luz LED branca apresentaram uma menor incidência de senescência e maior integridade celular, em comparação com aqueles submetidos ao escuro ou a luz LED color.

Figura 4 – Efeitos indesejáveis no processo de Calogênese de *Ananas comosus* var. *erectifolius* em Meio B5 suplementado com 2,4D + BAP sob condições de luminosidade



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

Isso sugere que a qualidade e a intensidade da luz são determinantes para a manutenção da viabilidade celular, prevenindo a vitrificação e a perda de turgidez. Além disso, a temperatura controlada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ foi adequada para a maioria das condições, mas a combinação de luz e reguladores de crescimento ainda precisa de ajustes finos para mitigar a rigidez dos calos e promover uma calogênese mais eficiente (AMINI *et al.*, 2023; CHANDIMALL, 2024).

3.2 Abordagens Inovadoras Propostas: Identificação e Análise dos Aspectos Indesejáveis

Os resultados obtidos nos experimentos de indução de calos evidenciaram diversos problemas fisiológicos que comprometeram a viabilidade dos explantes foliares de *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*. Entre esses problemas, foram observados necrose, oxidação nas bordas, perda de turgidez, vitrificação e rigidez, conforme ilustrado nas figuras 02, 03, 04 e 05. Essas alterações indicam que as condições experimentais, particularmente a composição do meio de cultura e as concentrações de reguladores de crescimento, não foram totalmente otimizadas para garantir a integridade celular.

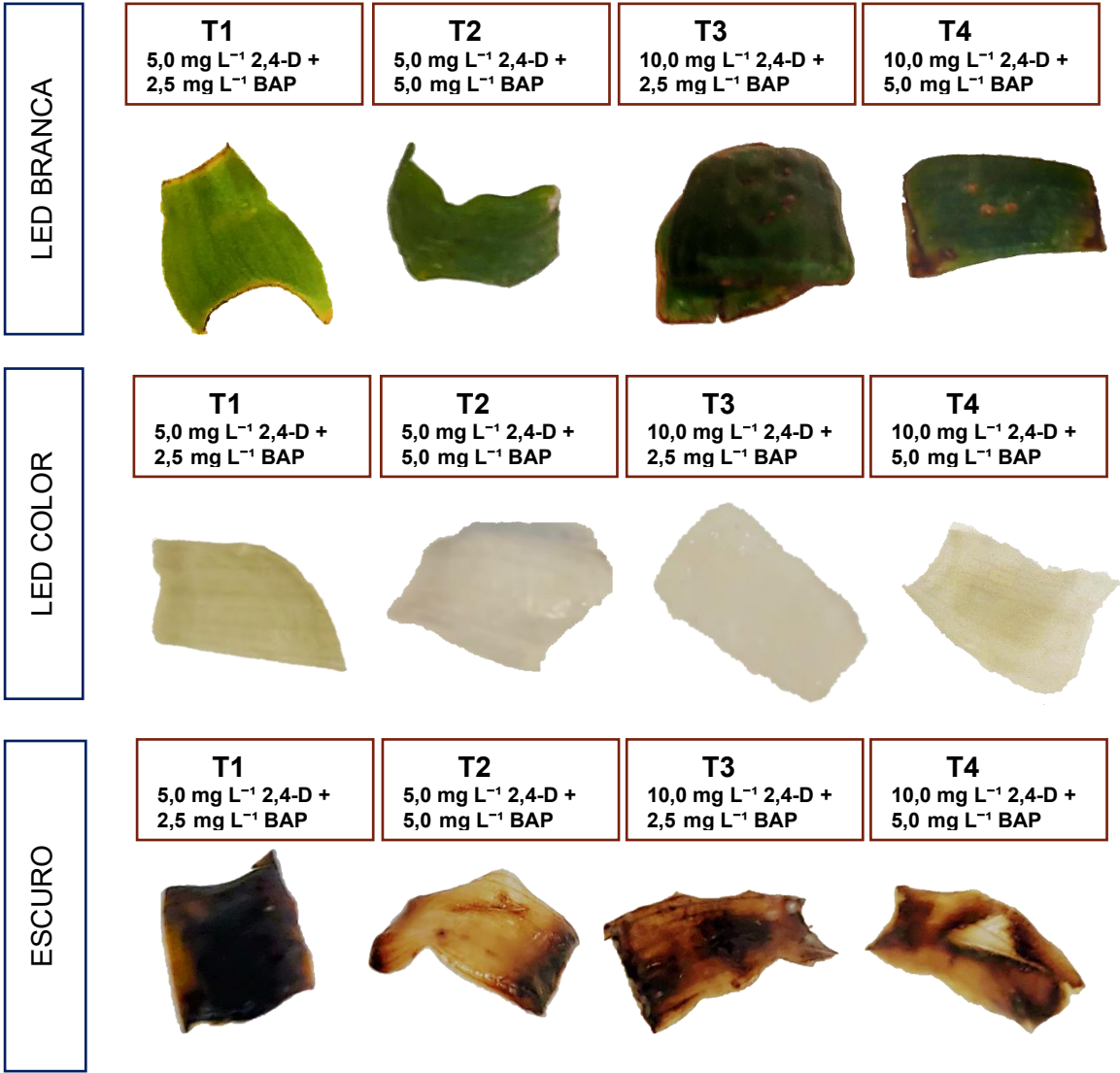
A necrose e outros sinais de degradação celular podem estar diretamente relacionados ao estresse oxidativo causado pela acumulação de espécies reativas de oxigênio (ROS). Em concentrações elevadas, as ROS podem prejudicar significativamente os componentes celulares, incluindo lipídios e proteínas, resultando em morte celular programada ou necrose. A ausência de luz, pode exacerbar a produção de ROS, especialmente em condições de estresse, como aquelas reproduzidas no ambiente de cultura *in vitro*. Além disso, a composição do meio de cultura, incluindo a concentração de reguladores de crescimento, desempenha um papel fundamental na indução de calos.

Exposição inadequada à luz, observada nas condições experimentais em que os explantes foram mantidos no escuro, pode ter agravado a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), intensificando os danos celulares. Além disso, a composição do meio de cultura e a concentração de reguladores de crescimento, como o 2,4-D, desempenham um papel central no controle do crescimento celular. Estudos recentes destacam que a biossíntese de auxinas endógenas é crucial para a manutenção da identidade celular durante a embriogênese somática. No entanto, níveis inadequados de auxinas, como o 2,4-D, podem desregular o crescimento, resultando em hiperplasia celular e morte precoce dos tecidos (ARAUJO, 2015; BASTOS, 2024)

As figuras 2, 3, 4 e 5 ilustram claramente explantes com bordas oxidadas, particularmente sob exposição à luz LED branca em meio MS e B5, enquanto os explantes mantidos no escuro apresentaram necrose completa. Esse padrão sugere que a falta de luz exacerbou o estresse oxidativo, levando à deterioração celular. O acúmulo de ROS, quando não adequadamente neutralizado pelos sistemas antioxidantes das plantas, pode comprometer a integridade celular e resultar na falha na indução de calos. A ausência de um fotoperíodo adequado e a exposição a condições de luz subótimas, como o uso da luz LED color, também

podem contribuir para o aumento da produção de ROS, desestabilizando os processos celulares e comprometendo a viabilidade dos explantes.

Figura 5 – Efeitos indesejáveis no processo de Calogênese de *Ananas comosus bracteatus* em Meio B5 suplementado com 2,4D + BAP sob condições de luminosidade



Fonte: Elaborado pelo Autor, 2024

Os mecanismos de defesa antioxidantes, como a indução de heme oxigenase-1 (HO-1), desempenham papel essencial na mitigação do estresse oxidativo. Estudos recentes demonstram que a HO-1 é vital na regulação da resposta antioxidante, reduzindo os efeitos das espécies reativas de oxigênio (ROS) em tecidos vegetais. A inclusão de antioxidantes

como ácido ascórbico e glutathiona no meio de cultura pode potencializar esses mecanismos, promovendo regeneração celular e evitando necrose dos explantes (HALIWELL, 2022; CHOUDHURY *et al.*, 2016). Ajustes nos níveis hormonais e antioxidantes são cruciais para melhorar a indução de calos e a viabilidade celular em sistemas *in vitro*.

Esses resultados destacam a importância de abordagens inovadoras no ajuste das condições de cultivo *in vitro*, como a modificação da composição do meio de cultura e o uso de fontes de luz mais adequadas, além da implementação de estratégias antioxidantes para melhorar a viabilidade dos explantes e a qualidade dos calos formados.

Esses resultados sublinham a necessidade de ajustar as condições de cultura, possivelmente introduzindo antioxidantes ou modificando a iluminação, para reduzir a necrose e melhorar a viabilidade dos explantes durante a calogênese. Além disso, é essencial reavaliar as concentrações de reguladores de crescimento utilizadas e a composição do meio de cultura, para garantir que não estejam contribuindo para o aumento do estresse oxidativo ou para a indução de condições desfavoráveis ao crescimento dos calos. A modificação dessas condições pode ser uma abordagem eficaz para melhorar os resultados e minimizar os efeitos adversos observados.

3.3 Propostas para Mitigação dos Aspectos Indesejáveis e Inovação na Aplicação de Tratamentos Pré-Cultura.

Ajustes na Composição do Meio de Cultura

Com base nos problemas identificados, é evidente que a composição do meio de cultura desempenha um papel crucial na indução de calos e na viabilidade dos explantes. A alta concentração de auxinas, como o 2,4-D, pode ter causado um crescimento celular descontrolado, resultando em necrose e colapso dos tecidos, conforme observado em espécies relacionadas (BASTOS *et al.*, 2015).

Para mitigar esses efeitos adversos, uma das propostas é ajustar a concentração dos reguladores de crescimento, especialmente do 2,4-D, e equilibrá-la com citocininas, como o BAP, que pode promover uma divisão celular mais controlada e saudável. A combinação equilibrada desses hormônios é crucial para evitar hiperplasia e a senescência precoce das células. Além disso, a introdução de antioxidantes ao meio de cultura pode ajudar a neutralizar as espécies reativas de oxigênio (ROS), prevenindo o estresse oxidativo que foi identificado como um dos fatores limitantes para o desenvolvimento adequado dos explantes (IQBAL *et al.*, 2016; KARAMI *et al.*, 2023).

Modificação das Condições de Incubação

Outro fator importante que deve ser considerado é a modificação das condições de incubação. Os resultados indicam que a ausência de luz e a exposição prolongada ao escuro podem agravar o estresse oxidativo nos explantes, levando à necrose e senescência. A falta de iluminação intensifica a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), exacerbando os danos celulares. Estudo de KOBORI *et al.* (2022) revela que a suplementação com luz LED pode modular esses efeitos, contribuindo para um melhor desenvolvimento *in vitro*. Além disso, BRITO *et al.* (2024) destacam que moléculas sinalizadoras, como o óxido nítrico, desempenham papel crucial na mitigação do estresse oxidativo.

Para mitigar os efeitos deletérios observados, é recomendado ajustar tanto a intensidade quanto o espectro luminoso durante a incubação. A aplicação de fotoperíodos específicos, combinada com iluminação LED azul ou vermelha, pode reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), promovendo uma indução calogênica mais eficiente. Além disso, a manutenção rigorosa de temperatura e umidade contribui para um ambiente de cultivo mais estável, potencializando os índices de sucesso na regeneração *in vitro* (ARAÚJO, 2015; KOBORI, 2022).

Exploração de Diferentes Tipos de Explantes

A utilização de explantes alternativos, como segmentos de caule ou raízes, pode ser uma abordagem promissora para superar os desafios associados ao uso de explantes foliares. Estudos indicam que tecidos meristemáticos apresentam maior resiliência às condições adversas de cultivo, respondendo de maneira eficiente ao meio de cultura e reduzindo os efeitos indesejáveis, como vitrificação e senescência (YANG *et al.*, 2023; ADJEI *et al.*, 2021).

Além disso, explantes de caule têm demonstrado maior resistência a estresses ambientais, melhorando a indução de calos e, conseqüentemente, a regeneração. Essa estratégia pode fornecer novas perspectivas para otimizar o cultivo de *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*, especialmente em condições controladas de micropropagação (BASTOS *et al.*, 2015; LIN *et al.*, 2023)

A diversificação dos tipos de explantes não apenas amplia as possibilidades experimentais, mas também possibilita *insights* sobre as condições ideais para a regeneração

e cultivo de variedades específicas. Essa abordagem é essencial para o avanço da biotecnologia aplicada à conservação e produção comercial dessas variedades (GOMES DA ROCHA, 2017; LEIVA *et al.*, 2024).

Por fim, a identificação de fatores que contribuem para a viabilidade e sucesso de explantes alternativos é fundamental para a implementação de protocolos mais eficazes. A utilização de diferentes tecidos pode mitigar os impactos de condições adversas, melhorando a eficiência geral dos processos regenerativos (SILVA, 2016; HAJ *et al.*, 2022)

3.4 Inovação na Aplicação de Tratamentos Pré-Cultura

Tratamentos Pré-Cultura: Prevenção e Mitigação de Estresses

Com base nos desafios observados durante o cultivo de explantes foliares de *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*, recomenda-se a aplicação de tratamentos pré-cultura com antioxidantes e hormônios antiestresse. Compostos como ácido ascórbico, ácido cítrico e glutathione são eficazes na neutralização de espécies reativas de oxigênio (ROS), reduzindo os danos celulares e melhorando a viabilidade dos explantes. Esses tratamentos ajudam a mitigar o estresse oxidativo, que frequentemente leva à necrose em condições *in vitro* (HATAMI & GHORBANPOUR, 2024; FALLAH, YUSEFI-TANHA, PERALTA-VIDEA, 2024).

Além dos antioxidantes, a aplicação de hormônios antiestresse, como o ácido abscísico (ABA) e o ácido salicílico (SA), pode ajudar a preparar os explantes para as condições de cultura *in vitro*. Estes hormônios são conhecidos por induzir respostas de defesa nas plantas, aumentando a resistência ao estresse ambiental e fisiológico. Estudos recentes indicam que a pré-exposição dos explantes a esses hormônios pode fortalecer os mecanismos internos de defesa, tornando os tecidos mais resilientes às condições estressantes do ambiente de cultura (VOß *et al.*, 2014; HASANUZZAMAN *et al.*, 2020).

Por fim, um protocolo pré-cultura que combina a imersão dos explantes em uma solução contendo baixos níveis de citocininas e auxinas antes da inoculação no meio de cultura pode melhorar significativamente a resposta dos tecidos. Essa abordagem pode facilitar a absorção de reguladores de crescimento e outros nutrientes essenciais, otimizando a capacidade regenerativa dos explantes. A combinação desses tratamentos com as práticas de cultura de tecidos pode aumentar a eficiência do processo de calogênese, mitigando os aspectos indesejáveis observados anteriormente.

4.0 Validação de Novas Abordagens com Referência a Estudos Bem-Sucedidos e Comparação com Estudos Análogos

No processo de validação das novas abordagens propostas para a indução de calos em *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*, é essencial referenciar estudos que obtiveram sucesso em situações similares, especialmente aqueles que enfrentaram desafios comparáveis na indução de calos em monocotiledôneas. Por exemplo, Amini *et al.* (2023) realizaram um estudo significativo sobre a indução de calos friáveis em *Crocus sativus* L., onde modificações nas concentrações de reguladores de crescimento e ajustes nas condições de cultura resultaram em uma alta taxa de sucesso na formação de calos friáveis. Esse estudo destaca a importância de ajustes meticulosos na formulação dos meios de cultura e nas condições ambientais para superar desafios específicos, o que pode ser diretamente aplicado ao contexto das espécies em estudo.

Para complementar, Espinoza-Mellado *et al.* (2021) demonstraram em suas pesquisas com células vegetais que a aplicação de antioxidantes e a otimização de condições de cultura podem mitigar o estresse oxidativo, um fator limitante frequentemente associado à falha na indução de calos. Ao considerar as abordagens inovadoras propostas, como a adição de antioxidantes ou a modificação das fontes de luz, esses estudos fornecem uma base sólida para justificar as estratégias que estamos sugerindo. A implementação dessas técnicas pode melhorar significativamente a viabilidade dos explantes e a eficácia da indução de calos.

Por fim, ao comparar essas novas abordagens com estudos análogos em outras espécies, como os trabalhos de Mehbub (2022) com ornamentais, observa-se que a adaptação de reguladores de crescimento específicos e a manipulação das condições ambientais podem aumentar substancialmente o sucesso na cultura de tecidos. Essas estratégias não só validam as propostas feitas, mas também sugerem que, com ajustes precisos, é possível alcançar melhores resultados na indução de calos em *Ananas comosus* var. *bracteatus* e *Ananas comosus* var. *erectifolius*, conforme necessário para estudos de bioprospecção e regeneração.

4.1 Análise Crítica dos Resultados Positivos: Discussão dos Fatores de Sucesso

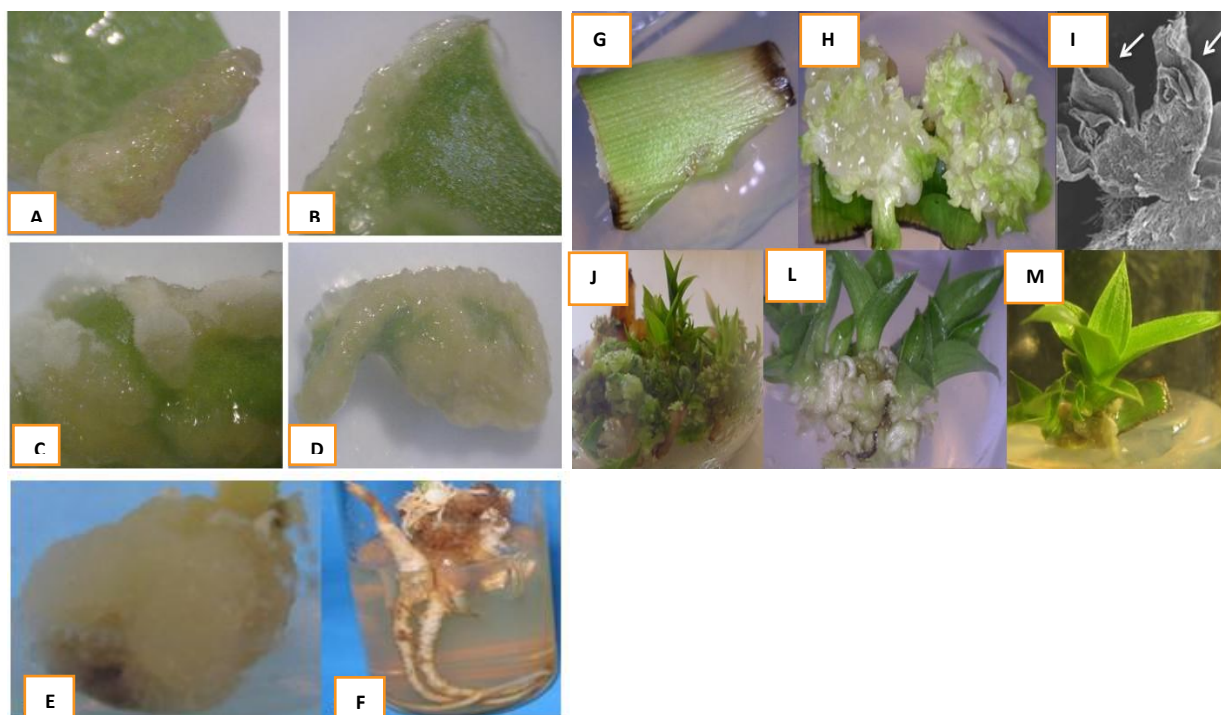
A análise crítica dos resultados obtidos em diferentes estudos de indução de calos evidencia fatores de sucesso associados a ajustes precisos no meio de cultura, condições ambientais adequadas e o uso de explantes específicos. No estudo de Araujo (2015), por exemplo, o uso de 2,4-D em concentrações equilibradas com BAP resultou na obtenção de calos friáveis de *Eustoma grandiflorum* (Figura 7 A-D). As concentrações ideais de

reguladores de crescimento desempenham um papel fundamental na regulação do crescimento celular, permitindo um controle eficiente da calogênese sem promover a rigidez ou necrose dos tecidos. O sucesso obtido por Araujo pode ser atribuído ao equilíbrio entre auxinas e citocininas, que induzem a divisão celular de forma mais controlada, evitando os problemas de vitrificação e senescência observados em outros estudos.

Figura 6 Diferenças morfológicas quanto à consistência e coloração dos calos formados em explantes de *lisianthus* a partir de diferentes concentrações de 2,4-D. A) calos friáveis e marrons; B) calos friáveis e amarelo-esverdeados; C) calos friáveis e branco leitoso; D) calos friáveis e amarelo-creme (ARAUJO, 2015).

Formação de calos friáveis segmento apical de plântulas de paricá (*S. Parahyba*). E) Formação de calos friáveis aos 15 dias de cultivo, com coloração bege claro, a partir de segmento apical de plântulas de paricá (*S. parahyba*) germinadas in vitro; F) Rizogênese a partir de calos de segmentos intercotiledonares de plântulas de paricá (*S. parahyba*) aos 30 dias de cultivo (REIS, LAMEIRA E CORDEIRO, 2007).

Micropropagação de *Ananas erectifolius* via organogênese indireta a partir do segmento de base foliar obtido de folhas jovens de *Ananas comosus erectifolius*. G) Explante excisado da base foliar; H) calo induzido no tratamento contendo TDZ; I) emissão da formação da parte aérea (ver seta) do calo, tomada com microscópio eletrônico de varredura; J e L) crescimento adicional da parte aérea no mesmo meio; M) brotos regenerados em meio MS de 1/4 de força (MOREIRA, 2016)



Fonte: Adaptação pelo AUTOR, 2024

Da mesma forma, o estudo de Reis, Lameira e Cordeiro (2007) sobre *Schizolobium Parahyba* (Figura 6 E-F) mostra que a indução de calos somáticos foi significativamente melhorada com o uso de 2,4-D em concentrações ajustadas (0, 2, 4 e 6 mg/L). As diferenças

na resposta dos explantes apicais e intercotiledonares sugerem que o tipo de explante é um fator determinante no sucesso da indução de calos. Em condições adequadas de meio de cultura, os explantes responderam bem à indução de calos, demonstrando que a escolha correta do explante e o ajuste das concentrações hormonais são fundamentais para alcançar resultados positivos (REIS, LAMEIRA & CORDEIRO, 2007).

O estudo de *Moreira et al. (2016)* investigou a regeneração de plantas a partir de segmentos foliares jovens de *Ananas comosus* var. *erectifolius* (Figura 6 G-M), destacando o uso de meio MS diluído a 1/4 da força suplementado com diferentes concentrações de reguladores de crescimento. Ao contrário da abordagem inicial sem reguladores, os resultados mostraram que o tratamento com TDZ e 2,4-D foi essencial para a indução de calos e subsequente formação de brotos, com os segmentos basais das folhas apresentando o melhor desempenho na formação de calos friáveis. Esse estudo sugere que, embora seja possível a regeneração com explantes jovens, o uso adequado de reguladores de crescimento em combinação com o tratamento de pulso pode aumentar significativamente a eficiência na regeneração de plântulas, tornando o processo mais controlado e reprodutível, especialmente para explantes de *Ananas comosus* var. *erectifolius*.

Essa abordagem oferece uma técnica eficiente para micropropagação, demonstrando que a combinação de PGRs e condições otimizadas de cultivo pode facilitar a regeneração de *Ananas* com maior consistência e controle sobre a qualidade dos calos formados.

4.2 Proposta de Protocolos Baseados em Evidências

a) Protocolo Específico para *Ananas comosus* var. *erectifolius*

Para a *Ananas comosus* var. *erectifolius*, conforme evidenciado por *Moreira et al. (2016)*, a regeneração in vitro via organogênese indireta demonstrou alta eficiência com a utilização de explantes juvenis, especificamente os segmentos basais da folha. Com base nesses achados, sugere-se que o protocolo inicie com a utilização de plântulas de 3 a 5 semanas de idade, a partir das quais os segmentos basais das folhas serão excisados para cultivo em meio MS diluído a 1/4 da concentração normal. Este meio deve ser suplementado com reguladores de crescimento, preferencialmente com TDZ (thidiazuron) e 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), conforme a combinação e concentrações testadas por *Moreira et al. (2016)*, que resultaram na indução de calos mais eficiente.

Plano Experimental:

Explantos: Utilizar segmentos basais de folhas juvenis de plântulas de *A. erectifolius* com 3-5 semanas.

Meio de Cultura: MS diluído a 1/4 da concentração, suplementado com:

TDZ (1,0 mg/L) para promover a indução de brotos.

2,4-D (0,5-1,0 mg/L) para indução de calos.

Tratamento de Pulso: Submeter os explantes a tratamento de pulso com TDZ e 2,4-D por 10 dias, conforme evidenciado por Moreira et al. (2016), onde este tratamento resultou em uma taxa de indução de calos de 66,83% e formação de brotos de 48,7%.

Condições de Cultivo: Manter os explantes em condições de escuro inicialmente, seguido de luz controlada (fotoperíodo de 16h/luz e 8h/escuro) para promover o desenvolvimento dos brotos a partir dos calos induzidos.

Avaliação: Após 30 dias de cultivo, avaliar a indução de calos, a formação de brotos e a regeneração completa da planta. A aclimatização deverá ser realizada em estufa com controle de temperatura e umidade, para garantir uma taxa de sobrevivência semelhante ao estudo (95%).

Potencial de Replicabilidade e Ajustes:

A replicabilidade do protocolo deverá ser testada com base em pequenas variações de concentração dos reguladores de crescimento e nos tempos de tratamento de pulso. Essas modificações visam ajustar o protocolo para diferentes condições laboratoriais e garantir que as respostas sejam consistentes. A abordagem também poderá ser testada com outros tipos de explantes (como segmentos foliares médios e apicais) para verificar se há diferenças significativas na eficiência da indução de calos e regeneração de brotos, conforme relatado em (MOREIRA *et al.* 2016).

b) Protocolo Específico para *Ananas comosus* var. *bracteatus*

A variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus* demonstrou maior suscetibilidade a características indesejáveis, como necrose e oxidação, durante o processo de indução de calos. Estudos como os de Chen *et al.* (2019) e Reis, Lameira e Cordeiro (2007) evidenciam a complexidade do manejo dessa variedade em condições *in vitro*, sugerindo a necessidade de ajustes mais específicos nas concentrações de auxinas e citocininas para evitar efeitos negativos, como vitrificação e perda de viabilidade.

Protocolo Proposto:**Meio de Cultura:**

1. Utilizar meio MS suplementado com concentrações mais baixas de 2,4-D (0,5 mg/L) e aumentar levemente a citocinina (5,0 mg/L de BAP) para promover um equilíbrio hormonal mais estável. Estudos prévios indicam que o excesso de auxina pode induzir crescimento descontrolado, levando à necrose e rigidez celular (IQBAL *et al.*, 2016; REIS *et al.*, 2007).
2. Para melhorar a indução de calos, propõe-se o uso de 2,4-D em concentrações de 0,3 mg/L, combinado com TDZ (Thidiazuron) a 3,0 mg/L, citocinina pouco explorada em Ananas comosus, mas com resultados promissores em outras espécies para indução de calos friáveis. Alternativamente, o Picloram a 0,5 mg/L pode ser testado, dadas suas propriedades de promover a embriogênese somática (FALLAR, 2024; MANOKARI, 2024).

Condições de Iluminação:

Utilizar luz LED azul/vermelho em fotoperíodo de 12 horas. Estudos destacam que essa combinação reduz ROS e melhora a morfogênese em várias culturas (HALIWELL, 2022). Luz branca moderada, alternando com azul/vermelho, auxilia no equilíbrio do estresse oxidativo.

Condições de Incubação:

Temperatura de 23 °C e umidade relativa de 80%. Essas condições proporcionam um ambiente favorável para espécies tropicais, minimizando a desidratação dos explantes (FALLAR, 2024).

Antioxidantes e Fotoperíodo:

Glutationa (50 mg/L), ácido ascórbico (40 mg/L) e ácido cítrico (30 mg/L) podem ser incorporados ao meio. Estes antioxidantes têm eficácia comprovada na redução de danos oxidativos e na estabilização dos explantes, neutralizando ROS em sistemas vegetais (HALIWELL, 2022; FALLAR, 2024).

Técnicas Inovadoras:

O uso de biorreatores de imersão temporária é sugerido para otimizar o crescimento e a qualidade dos calos. Estes sistemas permitem controle preciso das condições de cultivo, como aeração e trocas gasosas, melhorando a uniformidade e reduzindo os custos

operacionais. Esse método é replicável e eficiente para produção em larga escala de calos vegetais (MANOKARI, 2024; CHANDIMALI, 2024).

Esse protocolo ajustado reflete as necessidades fisiológicas mais complexas da variedade *Ananas comosus* var. *bracteatus*, propondo um manejo controlado das condições hormonais e ambientais para mitigar os problemas observados.

Potencial de Replicabilidade e Ajustes

A replicabilidade desses protocolos deve ser testada em condições controladas de laboratório, com análises periódicas da qualidade dos calos e das plântulas regeneradas. Ajustes nas concentrações de reguladores de crescimento e nas condições ambientais podem ser necessários dependendo dos resultados observados. Estudos futuros podem também explorar a variação no tipo de explante, como segmentos de caule ou gemas axilares, que podem apresentar maior resistência às condições adversas, conforme sugerido por (AHMED *et al.*, 2024).

4.3 Perspectiva para Estudos Futuros

Com base nos resultados obtidos neste estudo, os avanços na cultura de tecidos de *Ananas comosus* demonstram grande potencial para otimizar protocolos já existentes e expandir o conhecimento sobre as variedades *erectifolius* e *bracteatus*. O sucesso de estudos como o de *Moreira et al.* (2016) na regeneração de plântulas via organogênese indireta com *Ananas comosus* var. *erectifolius* sugere que futuras pesquisas podem se beneficiar ao explorar o uso de explantes juvenis e ajustar a combinação de reguladores de crescimento, como TDZ e 2,4-D, para otimizar a regeneração de plantas. Além disso, o tratamento de pulso pode ser um método eficaz para melhorar a indução de calos e a formação de brotos, abrindo novas possibilidades para o desenvolvimento de técnicas mais eficientes na micropropagação de *Ananas comosus*. A partir desses resultados, futuros estudos podem expandir o uso de abordagens como a incorporação de antioxidantes no meio de cultura para mitigar o estresse oxidativo.

Para aumentar a replicabilidade e refinar as técnicas utilizadas, a colaboração entre diferentes grupos de pesquisa será crucial. Colaborações com grupos que já obtiveram sucesso em estudos de embriogênese somática e organogênese, como os realizados por *Reis et al.* (2007) em *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*, podem fornecer *insights* valiosos e estratégias para superar desafios na propagação de *Ananas comosus* var. *bracteatus*. A

aplicação de protocolos já validados em novas condições experimentais pode acelerar a adaptação de técnicas e proporcionar resultados mais robustos. Além disso, a integração de tecnologias avançadas, como a análise de transcriptoma e proteômica, poderia fornecer uma compreensão mais profunda das respostas fisiológicas e bioquímicas envolvidas no processo de calogênese e regeneração, abrindo portas para inovações no cultivo *in vitro*.

5.0 CONCLUSÕES

Este estudo apresentou uma análise abrangente dos fatores que influenciam a indução de calos e regeneração em *Ananas comosus* var. *erectifolius* e *Ananas comosus* var. *bracteatus*, destacando as diferenças nas respostas fisiológicas e as características morfoanatômicas dessas variedades. Os resultados obtidos revelam a importância crítica de ajustar as concentrações de reguladores de crescimento, como o 2,4-D e BAP, bem como a composição do meio de cultura, para otimizar a calogênese e a regeneração de plântulas. Foi identificado que a variedade *Ananas comosus* var. *erectifolius* possui maior potencial para indução de calos friáveis, enquanto a *Ananas comosus* var. *bracteatus* apresentou mais desafios durante o processo, requerendo novas abordagens para minimizar os efeitos indesejáveis, como a vitrificação e a necrose.

A análise crítica sugere que o uso de explantes juvenis, tratamento de pulso com reguladores de crescimento, e a incorporação de antioxidantes no meio de cultura são propostas viáveis para melhorar a eficiência dos protocolos experimentais, conforme demonstrado em estudos anteriores. Além disso, os ajustes nas condições de luz e fotoperíodo se mostraram determinantes para a integridade celular e a qualidade dos calos formados.

Finalmente, estudos futuros poderão se beneficiar de colaborações interdisciplinares, que integrem tecnologias avançadas de análise genética e bioquímica para expandir ainda mais o conhecimento sobre os mecanismos fisiológicos envolvidos na cultura de tecidos dessas variedades de *Ananas comosus*. A replicabilidade e a validação desses protocolos em condições controladas contribuirão para o desenvolvimento de novas metodologias, com aplicações práticas em programas de biotecnologia vegetal e cultivo sustentável. Assim, este trabalho fornece uma base sólida para futuras investigações e contribui para o aprimoramento das técnicas de micropropagação, com foco na otimização e adaptação a diferentes contextos de cultivo *in vitro*.

6.0 REFERÊNCIAS

- ADIL, M.; JEONG, B. R (2018). **In vitro cultivation of Panax ginseng C.A. Meyer. Industrial Crops and Products**, v.122, p.239-251, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.076>.
- AHMAD S. *et al* (2024) **Efficient in-vitro regeneration protocol for large-scale propagation of Aloe vera (L.)** Burm.f., Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, Volume 43, 2024, 100588, ISSN 2214-7861, <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2024.100588>.
- AMINI, S.; ZIARATNIA, S. M.; RAJABZADEH, G (2023). **Improvement of friable callus induction of Crocus sativus L. and establishment of a cell suspension culture system with high biomass.** Journal of Horticulture and Postharvest Research, v.6, n.4, p.397-408, 2023. <https://doi.org/10.22077/jhpr.2023.6850.1338>
- ARAUJO, A. T. B. (2015). **Indução de calos em explantes foliares de Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Shinn).** Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, João Pessoa. PB
- BASTOS, F. J. O. *et al.* (2023). **Callus Induction in Bromeliads.** Journal of Biotechnology Advances.
- BASTOS, F. J. O.; SANTOS LIMA, A. P. P.; LIMA-BRITO, A.; SANTANA, J. R. F. (2015) **Indução de calos de Ortophytum mucugense Wand. e Conceição.** Revista Brasileira de Biociências, 2015.
- BEHERA, S. *et al.* (2024) **In vitro plant regeneration, genetic fidelity, biochemical analysis and anticancer activity of anthocyanin-rich purple flesh sweet potato var. ‘Bhu Krishna’**, South African Journal of Botany, Volume 166, 2024, Pages 332-343, ISSN 0254-6299, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.01.041>.
- BHATIA, S. Plant Tissue Culture. (2015) **Aplicações Modernas da Biotecnologia Vegetal em Ciências Farmacêuticas**, 2015. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802221-4.00002-9>
- BRITO, A. E. de A. *et al.* (2024) **Óxido nítrico como atenuador da toxicidade do cobre na concentração de nutrientes em mudas de milho.** Engenharia Agrícola, v. 32, p. 16-26, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.13083/reveng.v32i1.16812>.
- CAMPELO, M. F. *et al.* (2021) **Fenologia reprodutiva de Ananas comosus var. erectifolius (L. B. Smith) Coppens & F. Leal.** Research, Society and Development, v. 10, n. 5, 2021.
- CHANDIMALL, D. (2024) **Callus culture of marine algae: A comprehensive review of current circumstances and future perspectives.** Journal of Applied Phycology, 2024.
- CHEN, X. *et al.* (2019). **Tissue Culture Applications in Bromeliads.** Horticulture Journal.
- CHOUDHURY, F. K.; RIVERO, R. M.; BLUMWALD, E.; MITTLER, R. (2016) Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *The Plant Journal*, v. 90, n. 5, p. 856-867, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tpj.13299>.
- EFFERTH, T. (2019) **Biotechnology Applications of Plant Callus Cultures.** Engenharia, v.5, n.1, p.50-59, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.006>

EKIN, U.; DOGAN, M. (2024) **Enhancing in vitro micropropagation of *Alternanthera reineckii* Briq. using various light-emitting diodes, culture media and plant growth regulators.** *Kuwait Journal of Science*, v. 51, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.kjs.2024.100250>.

ESPINOZA-MELLADO. M. del R. *et al.* (2021), Chapter 3 - **Biotization and in vitro plant cell cultures: plant endophyte strategy in response to heavy metals knowledge in assisted phytoremediation**, Editor(s): Ajay Kumar, Vipin Kumar Singh, Pardeep Singh, Virendra Kumar Mishra, In Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Microbe Mediated Remediation of Environmental Contaminants, Woodhead Publishing, 2021, Pages 27-36, ISBN 9780128211991, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821199-1.00003-1>.

FALLAH, S.; YUSEFI-TANHA. E. & PERALTA-VIDEA, J.R. (2024) **Interaction of nanoparticles and reactive oxygen species and their impact on macromolecules and plant production.** *Plant Nano Biology*, v. 10, p. 100105, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plana.2024.100105>.

GOMES DA ROCHA, P. S. *et al.* (2017) **Uso de LEDs na multiplicação in vitro de três cultivares de bananeira.** *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2017v11i2.6666>.

HAIJ, S. *et al.* (2022) **The Effects of Temperature and Water on the Seed Germination and Seedling Development of Rapeseed (*Brassica napus* L.).** *Plants*, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants11212819>.

HALIWELL, B. (2022) **Reactive oxygen species (ROS), oxygen radicals and antioxidants: Where are we now, where is the field going and where should we go?** *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 633, p. 17–19, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.08.098>

HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; ALAM, M. *et al.* (2020) **Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Plants: Causes and Consequences.** Springer, 2020.

HATAMI, M.; GHORBANPOUR, M. (2024) **Metal and metal oxide nanoparticles-induced reactive oxygen species: Phytotoxicity and detoxification mechanisms in plant cell.** *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 213, p. 108847, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108847>.

IQBAL, M, *et al.* (2016) **In Vitro Study of Callogenesis and Regeneration Potential of Elite Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars.** *American Journal of Plant Sciences*, v.7, p.2515-2526, 2016. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.717219>

KARAMI, O.; PHILIPSEN, C.; RAHIMI, A.; NURILLAH, A. R.; BOUTILIER, K.; OFFRINGA, R. (2023) **Endogenous Auxin Maintains Embryonic Cell Identity and Promotes Somatic Embryo Development in Arabidopsis.** *The Plant Journal*, v.113, p.7-22, 2023.

KOBORI, M. M. R. G. *et al.* (2022) **Supplemental light with different blue and red ratios in the physiology, yield and quality of *Impatiens*.** *Scientia Horticulturae*, v. 306, p. 111424, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111424>.

- LEIVA, M. J. *et al.* (2024) **Efeito da fenologia da queda da bolota no sucesso do estabelecimento de mudas em duas espécies de carvalho mediterrâneo.** *European Journal of Forest Research*, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10342-024-01719-4>.
- LEWTAK. K., *et al.* (2024) **Implementation of biotechnological techniques for the propagation and introduction of *Trichosanthes kirilowii* Maxim,** *South African Journal of Botany*, Volume 175, 2024, Pages 169-179, ISSN 0254-6299, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.10.031>.
- LIU C., ZHANG W. & HE Y. (2022) **The complete chloroplast genome of *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B. Smith) Coppens & Leal, Mitochondrial DNA Part B**, 7:3, 431-433, DOI: 10.1080/23802359.2022.2039081
- MANOKARI, M. (2024) **Microencapsulation of calli accumulated betacyanins, short-term refrigerated storage and callus recovery in *Selenicereus undatus*.** *South African Journal of Botany*, 2024.
- MEHBUB, H.; *et al.* (2022) **Tissue Culture in Ornamentals: Cultivation Factors, Propagation Techniques, and Its Application.** *Plants* 2022, 11, 3208. <https://doi.org/10.3390/plants11233208>
- MOSHTAGHI, N. (2020) **Tissue and cell culture of saffron.** *Saffron*, p.229-246, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818638-1.00014-9>
- MOREIRA. C. M. *et al.* (2016) **Plantlet regeneration from young leaf segments of curaua (*Ananas erectifolius*), an Amazon species.** *Turk J Biol* (2016) 40: 1227-1234 © TÜBİTAK doi:10.3906/biy-1601-56
- REIS. I. N. R. de S. *et al.* (2007) **Efeito do 2,4-D na Indução de Calos in vitro de Paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby).** *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 498-500, jul. 2007
- SILVA, P. P. A. (2016) **Assimilação do nitrogênio na bromélia *Ananas comosus* var. *ananassoides* na presença de nitrato e/ou amônio em plantas provenientes de sementes ou de segmentos nodais.** *Dissertação de Mestrado*, Instituto de Botânica de São Paulo, 2016
- SRIVASTAVA, P.; SINGH, M.; CHATURVEDI, R. (2020) **Herbal Medicine and Biotechnology for the Benefit of Human Health.** *Biotechnologia Animal*, Segunda Edição, p.613-629, 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811710-1.00028-8>
- VOß, U.; BISHOPP, A.; FARCOT, E.; BENNETT, M. J. (2014) **Modelling Hormonal Response and Development.** *Trends in Plant Science*, v.19, n.6, p.311-319, 2014.
- YANG, W. *et al.* (2023) **Genome-Wide Identification and Characterization of R2R3-MYB Provide Insight into Anthocyanin Biosynthesis Regulation Mechanism of *Ananas comosus* var. *bracteatus*.** *International Journal of Molecular Sciences*, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms24043133>.