

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

CARACTERIZAÇÃO DE VARIEDADES DE ABACAXI E SUA POTENCIAL
UTILIZAÇÃO COMO FONTE DE FIBRAS

CÍNTIA PAULA FEITOSA SOUZA

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
NOVEMBRO - 2015

CARACTERIZAÇÃO DE VARIEDADES DE ABACAXI E SUA POTENCIAL
UTILIZAÇÃO COMO FONTE DE FIBRAS

CÍNTIA PAULA FEITOSA SOUZA

Engenheira Agrônoma
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – 2013

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

Orientadora: Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza

Coorientador: Dr. Everton Hilo de Souza

Coorientadora: Dra. Cláudia Fortes Ferreira

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
MESTRADO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA – 2015

FICHA CATALOGRÁFICA

S729 Souza, Cíntia Paula Feitosa

Caracterização de variedades de abacaxi e sua potencial utilização como fonte de fibras. / Cíntia Paula Feitosa Souza. – Cruz das Almas, BA, 2015.

91 f. il.; 30 cm.

Orientadora: Dr^a. Fernanda Vidigal Duarte Souza.

Coorientador: Dr. Everton Hilo de Souza.

Coorientadora: Dr^a. Cláudia Fortes Ferreira

Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais)- Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2015.

1. Abacaxi. 2. Marcador molecular. 3. Nutrição animal. I. Souza, Fernanda Vidigal Duarte. II. Souza, Everton Hilo de. III. Ferreira, Cláudia Fortes. VI. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia V. Título.

CDD: 634.774 (21.ed.)

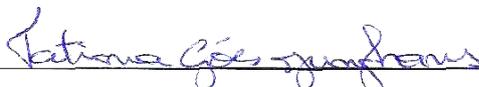
Ficha catalográfica elaborada por Lucidalva R. G. Pinheiro- Bibliotecária CRB51161
– Embrapa Mandioca e Fruticultura

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

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE CÍNTIA
PAULA FEITOSA SOUZA



Dra. Fernanda Vidigal Duarte Souza
Embrapa Mandioca e Fruticultura



Dra. Tatiana Goés Junghans
Embrapa Mandioca e Fruticultura



Dr. Rogério Mercês Ferreira Santos
Universidade Estadual de Feira de Santana

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Recursos
Genéticos Vegetais em,
conferindo o Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais em
.....

“Àquele que é capaz de fazer infinitamente mais do que tudo o que pedimos ou pensamos, de acordo com o seu poder que atua em nós, a Ele seja dada a glória... e a Jesus Cristo por todas as gerações, para todo o sempre! Amém.”

(Efésios 3:20,21)

Agradecimentos

Crendo que é Deus quem efetua em nós tanto o querer quanto o realizar, tão somente a Ele agradeço por me permitir concretizar o que busquei e o que me foi proposto. Deus dá asas e vida aos nossos sonhos e por vontade d'Ele podemos alcançar a arte de ter o máximo possível de felicidade em nosso jornada.

Em nosso caminho encontramos pessoas que contribuem, cooperam, suavizam, e tornam a estrada mais fácil. A estes chamo de anjos humanos, os quais não poderia esquecer, diante de um mundo em que a empatia e o amor são sentimentos raros, a valorização de atitudes tão humanas é simplesmente o mínimo que posso fazer. Não há como retribuir de forma semelhante, pois foram atitudes únicas, e cada um tem a sua essência, sua identidade, mas posso me permitir refletir o que me foi ofertado e doado.

Atributos como paciência, compreensão, amizade e o dom de orientar, encontrei em Dra. Fernanda Vidigal, mais uma vez posso dizer que você é um diferencial, não há possibilidade de passar por você e sair da mesma forma. Você prepara pessoas para o futuro e com orgulho eu posso dizer essa é minha orientadora.

Em Dr. Everton Hilo, encontrei um ombro amigo, que me segurou pela mão e me ajudou a chegar até aqui. Sabe aquele sentimento chamado empatia que eu falei no início, pois é, você transborda. E tem um jeito único de falar que tudo vai dar certo. Eu sei que Deus tem grandes coisas reservadas pra você e todo o seu esforço, competência e dedicação um dia serão recompensados.

A Dra. Cláudia, muito obrigada pela disponibilidade, paciência e orientação em uma área que eu não tinha o mínimo de conhecimento.

A minha família, (Paulo, Maria do Carmo, Welder e Vitória) meus pais e irmãos respectivamente, me ajudam a sonhar e ainda sonham por mim em cada fase da minha vida. Sem o apoio de vocês seria difícil prosseguir. A cada momento de fraqueza eu recebia palavras de ânimo, motivação e coragem. Muito obrigada por me abraçar e dedicar tanto amor sem eu merecer.

Ao meu amor-amigo, Paulo Bruno, muito obrigada por estar presente em todos os momentos e acreditar que somos capazes de andar mais uma milha juntos. Apostamos e confiamos um no outro e sei que juntos somos mais fortes!

Agradeço de coração a Orjana, Thaina e Marciene que de uma forma tão especial me ofertaram uma linda amizade me fazendo perceber o quanto os nossos dias de trabalho podem ser divertidos entre uma conversa e outra, entre um riso e outro.

Aos colegas de cada lugar que passei, campo ou laboratório, que se preocuparam comigo e sempre me apoiaram no que eu precisava, quero agradecer: Benedito Conceição (campo), Tânia, Ronilze, Lucas (cultura de tecidos) Kátia Pestana, Cátia Dias, Paulo Henrique, Vandeson, Raimundo, Andresa (biologia molecular), Professora Daniele Loures, Rosani, Núbia e demais colegas (bromatologia).

Enfim, por tudo e a todos o meu muito obrigada!!!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO.....	1
Capítulo 1	
AVALIAÇÃO CLONAL E BROMATOLÓGICA DE HÍBRIDOS DE ABACAXI DESENVOLVIDOS PARA A EXTRAÇÃO DE FIBRAS.....	16
Capítulo 2	
MICROPROPAGAÇÃO DE HÍBRIDOS DE ABACAXI DESENVOLVIDOS PARA EXTRAÇÃO DE FIBRAS.....	45
Capítulo 3	
DIVERSIDADE GENÉTICA E ASSOCIAÇÃO DE MARCADORES ISSR À QUALIDADE DE FIBRA DE ABACAXI PARA USO NA INDÚSTRIA.....	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	90

CARACTERIZAÇÃO DE VARIEDADES DE ABACAXI E SUA POTENCIAL UTILIZAÇÃO COMO FONTE DE FIBRAS

Autora: Cíntia Paula Feitosa Souza
Orientadora: Fernanda Vidigal Duarte Souza
Coorientador: Everton Hilo de Souza
Coorientadora: Cláudia Fortes Ferreira

RESUMO: Entre os gêneros que compõem a família Bromeliaceae, o mais importante em termos econômicos é o *Ananas*, que apresenta multiplicidade de usos. Dentre as fibras vegetais, a do curauá (*Ananas comosus* var. *erectifolius*), tem se destacado por sua qualidade e já vem sendo usada na indústria. O objetivo desse trabalho foi realizar a avaliação clonal de híbridos de abacaxi voltados para a produção de fibra, bem como realizar uma análise bromatológica das folhas inteiras e do bagaço após desfibramento mecânico; avaliar a resposta destes híbridos ao processo de produção de mudas por micropropagação e ainda identificar associações entre bandas provenientes de marcadores ISSR com as variáveis para qualidade de fibra. A avaliação clonal e bromatológica foi realizada em quatro híbridos e parentais/ cultivares referência. Na etapa da micropropagação foram utilizadas gemas axilares retiradas do talo e da coroa de oito híbridos. Na extração de DNA foram considerados treze genótipos do programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Os resultados da avaliação clonal mostraram híbridos estáveis e que de fato se constituem em novidade para o mercado, ainda que um dos híbridos apresentou 10% de variação no segundo ciclo de cultivo. Os ensaios bromatológicos evidenciaram que o bagaço após o desfibramento mecânico da folha pode se constituir em uma alternativa interessante para a alimentação animal. A micropropagação demonstrou ser uma alternativa de cultivo promissora para os híbridos estudados, ainda que demande estudos adicionais para incrementar as taxas de multiplicação. No que se refere ao estudo feito com marcadores ISSR foram selecionadas onze bandas que apresentaram alta correlação com as variáveis de qualidade de fibra, deixando evidente o potencial para uso futuro em seleção assistida por marcadores.

Palavras-chave: *Ananas comosus* (L.) Merr., avaliação clonal; alimentação animal; marcadores moleculares; propagação *in vitro*.

PINEAPPLE VARIETY CHARACTERISTICS AND THEIR POTENTIAL USE AS SOURCE OF FIBRE

Author: Cíntia Paula Feitosa Souza

Advisor: Fernanda Vidigal Duarte Souza

Co-advisor: Everton Hilo de Souza

Co-advisor: Cláudia Fortes Ferreira

ABSTRACT: Among the genera that belongs to Bromeliaceae family, *Ananas* is the most important and presents multitude of uses. The fibers of curauá (*Ananas comosus* var. *erectifolius*), has been highlighted for its quality and is already being used in industry. The aim of this work was to carry out the clonal evaluation of pineapple hybrid focused on fiber production as well as perform a bromatological analysis of whole leaves and leaf mulch after mechanical defibration; to evaluate the response of these hybrids to micropropagation process and still identify the associations between bands from ISSR with the variables of quality fibers. The clonal evaluation and bromatological assay was carried out to four hybrids and its genitors (cultivars reference). Axillary buds from crown and stalk from eight hybrids were used as explant to micropropagation test. The DNA extraction were performed with thirteen genotypes from the breeding program of Embrapa Cassava and Fruits. The results of clonal evaluation showed the genetic stability and the novelty of these hybrids although one of the hybrids showed 10 % of variation in the second crop cycle. The bromatological evaluation showed that the residue after mechanical defibration can be an interesting alternative for animal feed. The micropropagation system is a promising alternative for the hybrids, although further studies need to be done for increasing the multiplication rates. In the study with ISSR markers, eleven bands were selected and showed a high correlation with the variables of fiber quality, suggesting the potential use for selection assisted by markers.

Key words: *Ananas comosus* (L.) Merr., clonal evaluation, animal feed, molecular market, *in vitro* propagation.

INTRODUÇÃO

Taxonomia e origem do abacaxizeiro

A família Bromeliaceae é constituída por aproximadamente 58 gêneros e 3.352 espécies (LUTHER, 2012). Entre os gêneros que compõem esta família, o mais importante em termos econômicos é o *Ananas*, ao qual pertence o abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merr.) utilizado para o consumo in natura e industrializado (FAO, 2015).

Quanto à taxonomia para o gênero *Ananas*, segundo a classificação atual proposta por Coppens D'Eeckembrugge e Leal (2003), a este gênero pertencem apenas duas espécies: *Ananas comosus* (L.) Merrill, que inclui cinco variedades botânicas (*A. comosus* var. *ananassoides*, *A. comosus* var. *bracteatus*, *A. comosus* var. *erectifolius*, *A. comosus* var. *paraguayensis*, e *A. comosus* var. *comosus*) e *A. macrodontes* E. Morren.

O Brasil é considerado um dos principais centros de diversidade genética do abacaxizeiro (LEAL; ANTONI, 1981; FERREIRA; CABRAL, 1993). O centro de origem das espécies de *Ananas* incluindo o abacaxi (*A. comosus* (L.) Merrill,) localiza-se na área entre 15 °N a 30 °S de latitude e 40 °L a 60 °O de longitude, correspondendo às regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, Norte da Argentina e do Paraguai (COLLINS, 1960). Contudo, o centro de origem do gênero *Ananas* pode também ser a área entre 10 °N a 10 °S de latitude e 55 °L a 75 °O de longitude, uma vez que a maioria das espécies deste gênero ocorre nesta área (LEAL; ANTONI, 1981). Estudos evidenciaram a ocorrência de maior variação morfológica nos tipos selvagens e cultivados do gênero *Ananas* nas áreas situadas ao norte do Rio Amazonas, nas regiões do Orinoco, Rio Negro, Amapá e Guianas, do que nas regiões Sul do Brasil e Norte do Paraguai (LEAL; COPPENS

D'EECKENBRUGGE, 1996). A substituição de cultivares locais por cultivares melhoradas e o desmatamento acelerado que vem ocorrendo nas regiões consideradas como centros de diversidade genética do abacaxizeiro constituem-se entre as principais causas de erosão genética no gênero *Ananas*.

Importância do abacaxizeiro

O abacaxi é uma das principais frutas consumidas em todo o mundo. Em 2013, a produção mundial alcançou aproximadamente 24,78 milhões de toneladas, em uma área colhida de 1,18 milhão de hectares (FAO, 2015). No Brasil, a fruta é produzida em todos os estados com uma área plantada de 60,65 hectares com uma produção de 2,48 milhões de toneladas em 2013 (FAO, 2015).

O abacaxi se constitui na sexta fruteira tropical mais explorada economicamente no mundo, sendo o Brasil, o segundo maior produtor mundial. Outros países com produção significativa são a Costa Rica (2,68 milhões de toneladas), Filipinas (2,45 milhões de toneladas), Tailândia (2,21 milhões de toneladas), e Indonésia (1,83 milhões de toneladas) (FAO, 2015).

A produção do abacaxi concentra-se principalmente na alimentação como fruta fresca ou processada. Entretanto, outros potenciais são explorados no gênero, como a produção de enzimas de ação proteolítica e metabólitos secundários com atividades biológicas antioxidantes (BENNETT, 2000; ROSSI; TAMBOURGI, 2005; FISHER, 2007; MANETTI et al., 2009; KUMMAR et al., 2011), uso ornamental (COPPENS D'EECKENBRUGGE; DUVAL, 2009; SANEWSKI, 2009; SOUZA et al., 2012a; 2014) na alimentação animal (FAGUNDES; FAGUNDES, 2010; SANTOS et al., 2014), além da produção de fibras, para fabricação de material rústico como cordas e tecidos ou na indústria (ZAH et al., 2007; LEÃO et al., 2009; SENA NETO et al., 2013; 2015).

Fibras vegetais

Atualmente temas relacionados às questões ambientais, de desequilíbrio de ecossistemas e alterações climáticas têm trazido preocupações e despertado interesse da comunidade científica, bem como da sociedade (MARINELLI et al., 2008) e, por conseguinte, gerado interesse na utilização de fontes renováveis e sustentáveis a partir de uma interação mais profunda entre o homem e a natureza de modo que haja equilíbrio no uso dos recursos naturais. Diante disso, vê-se a

necessidade de investir em novas tecnologias a fim de produzir um material de alto desempenho a partir de fontes renováveis (SOUZA, 2010).

A utilização de fibras vegetais como reforço em compósitos poliméricos tem se constituído uma alternativa interessante, por ser uma fonte natural, biodegradável e, portanto, sustentável. Devido a sua grande disponibilidade, principalmente em países de clima tropical, as fibras vegetais apresentam baixo custo e a grande vantagem de serem renováveis (FERREIRA et al., 2012).

Considerados ecologicamente corretos, os compósitos com fibras vegetais tem-se mostrado uma alternativa viável em muitas aplicações na substituição de polímeros reforçados com fibra de vidro, dentre outros (SANTOS et al., 2009).

Dentre as fibras vegetais utilizadas (materiais lignocelulósicos) como reforço em compósitos de matriz termofixa e/ou termoplástica podem ser citadas as de: sisal, juta, coco, banana e curauá (MARINELLI et al., 2008). Esses compósitos são utilizados em diversos segmentos da indústria, desde o automobilístico, com peças de carros até o da construção civil, com telhas, vigas, vigotas e outros produtos (MARINELLI et al., 2008). Apresentam propriedades e características peculiares como baixo custo, baixa densidade, flexibilidade no processamento e uso de sistemas simples quando o tratamento de superfície é necessário. E mais importante, as fibras vegetais são amplamente distribuídas, disponíveis, moldáveis, não abrasivas, porosas, viscoelásticas, biodegradáveis combustíveis e reativas (TITA et al., 2002).

Dentre as fibras vegetais usadas, a fibra do curauá, tem se destacado por sua qualidade e já vem sendo usada na indústria (LEÃO et al., 2000; SENA NETO et al., 2013; 2015).

O *A. comosus* var. *erectifolius*, conhecido como curauá, destaca-se entre as espécies com potencial para produção de fibras da Região Amazônica. A variedade tem sido alvo de constantes pesquisas nacionais e internacionais, com resultados significativos a cerca da qualidade da fibra (OLIVEIRA et al., 2008).

As fibras do curauá vêm sendo largamente utilizadas em vários setores da indústria: automobilística, papel, têxtil e na construção civil (LEÃO et al., 2000; 2009). As plantas caracterizam-se por apresentarem porte baixo e ciclo perene, com produção contínua estimada de cinco anos. Essa cultura apresenta alto potencial de comercialização, possibilitando a recuperação dos investimentos

iniciais com sua implantação, por meio de vendas da fibra e mudas da planta (LOBATO, 2010).

Essas fibras podem substituir a fibra de vidro empregada como reforço ao plástico na fabricação de peças, produzidas pelo processo de moldagem por injeção, como botões do painel de carros, maçanetas e dobradiças de quebra-sol, assim como também são fabricadas, através de outro processo, peças de grandes dimensões, como a parte interna das portas e a tampa do compartimento de bagagem de alguns modelos de carros (ERENO, 2007).

Spinacé et al. (2011) ao comparar as propriedades mecânicas das fibras de sisal com as das fibras de curauá, concluíram que compósitos de polietileno de alta densidade e polipropileno reforçados com fibras de curauá apresentam propriedades de resistência mecânica no modo tração e flexão, superiores quando comparadas aos compósitos com fibras de sisal. A fragilidade da fibra de sisal provoca a quebra da mesma no processo de moagem, reduzindo a sua razão de aspecto e influenciando a eficiência de reforço no compósito.

A demanda por fibras de curauá tem crescido rapidamente, muito além do que é produzido atualmente no país, reflexo do interesse despertado pela possibilidade de vários usos. Entre os usos estão caixas d'água, piscinas, tecidos antialérgicos e até a utilização da fibra vegetal como material substituto para as vigas de ferro usadas no lugar de concreto em países como o Japão, que enfrentam problemas de tremores de terra de alta intensidade, pela sua alta resistência mecânica e leveza (ERENO, 2007).

Melhoramento genético do abacaxizeiro voltado para fibras vegetais

A Embrapa Mandioca e Fruticultura possui um Banco Ativo de Germoplasma de Abacaxi (BAG Abacaxi) que conta atualmente com mais de 600 acessos conservados em condições de campo e que são foco de caracterizações variadas, buscando ampliar o leque de uso do conjunto gênico do gênero (SOUZA et al., 2012a; SENA NETO et al., 2013; 2015).

O programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura desenvolveu híbridos voltados para uso ornamental, que, no entanto, tinham como um dos parentais o curauá (BGA-739 e BGA-804) (SOUZA et al., 2014). Dessa forma foi iniciado um trabalho com a finalidade de caracterizar tanto alguns acessos do BAG Abacaxi (SENA NETO et al., 2013) como os híbridos de

curauá (SENA NETO et al., 2015) quanto à qualidade de suas fibras para uso como reforço em matrizes poliméricas. A partir desse trabalho de caracterização foram obtidos resultados que serviram de base para a seleção dos híbridos que constam no presente trabalho. Foram selecionados materiais que apresentaram fibras com características semelhantes ou superiores as do curauá.

Os híbridos foram clonados e submetidos a um ensaio que buscava avaliar a homogeneidade de seus clones e sua estabilidade genética em dois ciclos consecutivos.

Esses ensaios são válidos também para a proteção intelectual das novas variedades e são reconhecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) se conduzidos de acordo com sua normativa (BRASIL 2011). São testadas as características de distinguibilidade (diferenças claras de qualquer outra variedade cuja existência na data do pedido de proteção seja reconhecida), homogeneidade (uniformidade entre plantas dentro da mesma geração) e estabilidade (manutenção das características através de gerações sucessivas) da cultivar.

Em vista disso, a avaliação clonal foi realizada a partir da aplicação da lista de descritores publicada no MAPA para o abacaxizeiro ornamental. Para este trabalho, entretanto tiveram que ser consideradas outras características, voltadas para fibras e que não constam na lista publicada, tais como, porcentagem de fibra seca por planta e o comprimento da fibra. Essas características são importantes para se considerar a capacidade de produção de fibra dos híbridos em estudo.

Uso do abacaxi na alimentação animal

Outro uso, para o qual tanto os restos culturais de abacaxizeiros quanto o bagaço após a retirada das fibras pode ser utilizado, é o aproveitamento para a alimentação animal.

Silva et al. (2014) relatam que um grande problema que ocorre anualmente é a escassez de alimentos volumosos, o que acaba por refletir na baixa produtividade dos rebanhos. Esse fato onera os custos produtivos em função da suplementação na alimentação com o fornecimento de forragens conservadas ou alimentos concentrados, visando corrigir as deficiências nutricionais. A utilização de alimentação alternativa pode ser uma estratégia viável nesse setor podendo gerar impacto positivo significativo na pecuária.

Diversos estudos relatam o aproveitamento de resíduos do cultivo de abacaxizeiros na alimentação animal (GUTIERREZ et al., 2003; HERRERA et al., 2009; FAGUNDES; FAGUNDES, 2010; SANTOS et al. 2014), bem como do aproveitamento dos resíduos de agroindústria de frutas tropicais (LOUSADA JÚNIOR et al., 2006; SILVA et al., 2014), sugerindo ou recomendando o uso favorável desses produtos.

Propagação *in vitro*

Dentre os aspectos que devem ser considerados no lançamento de uma nova variedade e sua adoção pelos produtores está a oferta de mudas no mercado. O êxito no uso do curauá como fonte de fibras vegetais deveu-se, principalmente, ao desenvolvimento de um protocolo de micropropagação eficiente que permitiu a produção de milhares de mudas (PEREIRA et al., 2006; 2008). A possibilidade da produção de mudas em larga escala incentivou a ampliação dos plantios e, portanto, a oferta de fibras para os setores demandantes.

O abacaxizeiro é propagado convencionalmente pela utilização de mudas formadas a partir de diferentes partes vegetativas da planta. Este método de propagação é lento e requer um grande volume de material de plantio (USMAN, 2013).

A produção de plantas de abacaxizeiro em laboratório já vem sendo feita com êxito para muitas variedades desde finais dos anos 90 com vários protocolos já publicados (DAL VESCO et al., 2001; BARBOZA et al., 2004; PASQUAL et al., 2008; CARVALHO et al., 2009; SOUZA et al., 2012b; 2013). No entanto, a forte dependência em relação ao genótipo tem levado à busca por melhores protocolos, mais adaptados às novas variedades/ cultivares (SOUZA et al., 2012a; 2013; SANTOS et al., 2015). Um protocolo eficiente de micropropagação deve fornecer plantas com uma alta qualidade, aliado às altas taxas de multiplicação, com baixo risco de variação somaclonal e baixo custo de produção.

Na Embrapa Mandioca e Fruticultura, a micropropagação de abacaxizeiros vem sendo usada em apoio ao melhoramento genético e à conservação *in vitro* de acessos do BAG Abacaxi, a partir de um protocolo básico estabelecido por Souza et al. (2013) para o Laboratório de Cultura de Tecidos (LCT).

Os híbridos selecionados para este trabalho são resultado de parentais silvestres, dos quais não se conhece o comportamento *in vitro*. Buscou-se, portanto ver a adequação do protocolo adotado no LCT para estes novos materiais com a finalidade de produzir mudas em larga escala.

Caracterização molecular

As caracterizações para qualidade de fibra são laboriosas e de custo relativamente elevado. Assim, caracterizar um número elevado de acessos, como os que tem o BAG Abacaxi seria impossível sem uma estratégia adicional. O uso de marcadores moleculares possibilita a identificação de genótipos e pode subsidiar uma possível seleção assistida (MULCAHY et al., 1993).

Os marcadores moleculares, geralmente baseados na amplificação de fragmentos de DNA por reação em cadeia da polimerase têm sido utilizados a contento em programas de melhoramento de plantas (SILVA et al., 2011), e são considerados um método eficiente e vantajoso para o estudo dos genomas, pois detectam polimorfismos diretamente no DNA, não sofrem influência ambiental e são independentes do estágio de desenvolvimento da planta (FERREIRA; GRATAPAGLIA, 2008).

Diversos métodos de análise molecular, ao nível de DNA têm sido utilizados em estudos de variabilidade em plantas, no intuito de identificar e determinar relações ao nível de espécies e cultivares, dentre eles, pode ser citado o método ISSR (*inter simple sequence repeat*) que tem sido amplamente utilizado em vários estudos por ser uma técnica simples, eficiente, possuir alta reprodutibilidade e gerar altos índices de polimorfismo (REDDY et al., 2002).

Estes marcadores demonstram alto conteúdo de informação genética, e parecem ser apropriados para estudos filogenéticos e identificação de genótipos (RAKOCZY-TROJANOWSKA; BOLOBOK, 2004), bem como estudos de análise de diversidade genética (TANYA et al., 2011; NOORMOHAMMADI et al., 2013; GAIKWAD et al., 2014).

O marcador molecular utilizado no presente estudo foi o ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeats*), o qual não requer informações antecipadas de sequências de DNA da espécie-alvo e geram fragmentos com grande reprodutibilidade, quando comparados a outros marcadores com base em PCR não específico como o RAPD (WOLFE; LISTON, 1998).

OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi realizar a avaliação clonal de híbridos de abacaxi voltados para a produção de fibra, bem como realizar uma análise bromatológica das folhas inteiras e do bagaço após desfibramento mecânico; avaliar a resposta destes híbridos ao processo de produção de mudas por micropropagação e ainda identificar associações entre bandas provenientes de marcadores ISSR com as variáveis para qualidade de fibra.

REFERÊNCIAS

- BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S.; SOUZA, L. A. C. Micropropagação do híbrido PExSC-52 e da cultivar Smooth Cayenne de abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 8, p. 725-733, 2004.
- BENNETT, B. C. Ethnobotany of Bromeliaceae. In: BENZING, D. H. (Ed.). **Bromeliaceae: profile of an adaptative radiation**. Cambridge: University: Cambridge, 2000.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, **Proteção de Cultivares no Brasil** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo, Brasília : Mapa/ ACS, 202 p. 2011.
- CARVALHO, A. C. P. P.; PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. M. G.; MORAIS, J. P. S. Multiplicação *in vitro* de abacaxi ornamental por estiolamento e regeneração de brotações. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 103-108, 2009.
- COLLINS, J. L. **The pineapple**. Botany, cultivation and utilization. New York, Interscience Publishers, 294 p. 1960.
- COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; DUVAL, M. F. The domestications of pineapple: context and hypotheses. **Pineapple News**, n. 16, p. 15-26, 2009.
- COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; LEAL, F. Morphology, Anatomy and Taxonomy. In: BARTHOLOMEW, D. P.; PAULL, R. E.; ROHRBACH, K.G. (Eds.): **The Pineapple: botany, production and uses**. New York, CABI Publishing, p.13-32, 2003.
- DAL VESCO, L. L.; PINTO, A. A.; ZAFFARIB, G. R.; NODARIA, R. O.; REISA, M. S.; GUERRA, M. P. Improving pineapple micropropagation protocol through explant size and medium composition manipulation. **Fruits**, v. 56, n. 3, p. 143-154, 2001.
- ERENO, D. Leve e resistente curauá substitui fibra de vidro em peças de carro. **Revista Pesquisa FAPESP**, v.141, p. 20-24, 2007.

FAGUNDES, N. S.; FAGUNDES, N. S. Restos culturais do abacaxizeiro na alimentação de ruminantes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v, 7, n. 3, p. 1243-1247, 2010.

FERREIRA, F. R.; CABRAL, J. R. S. Pineapple germplasm in Brazil. **Acta Horticulturae** v. 334, p. 23-26, 1993.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3.ed. Brasília: Embrapa Cenargen, (**Documentos**, 20), 220 p. 2008.

FERREIRA, S. R.; LIMA, P. R. L.; SILVA, F. A.; TOLEDO FILHO, R. D. Influência de ciclos molhagem-secagem em fibras de sisal sobre a aderência com matrizes de cimento Portland. **Revista Matéria**, v. 17, n. 2, p. 1024-1034, 2012.

FISCHER, S. Z.; STUMPF, E. R. T.; HEIDEN, G.; BARBIERI, R. L.; WASUM, R. A. Plantas da flora brasileira no mercado internacional de floricultura. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 1, p. 510-512, 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) Database, United States: Database. [United States: **FAO/FAOSTAT**, Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>, Acesso em: 12 Jun 2015.

GAIKWAD, A. B.; ARCHAK, S.; GAUTAM, D. DNA profiling of *Capsicum annum* L. cultivars based on AFLP and ISSR markers. **Geneconserve**, v. 12, n. 49, p. 4-12, 2014.

GUTIÉRREZ, F.; ROJAS-BOURRILLÓN, A.; DORMOND, H.; POORE, M.; CHING-JONES, R. W. Características nutricionales y fermentativas de mezclas ensiladas de desechos de piña y avícolas. **Agronomía Costarricense**, v. 27, n. 1, p. 79-89, 2003.

HERRERA, M. L.; WINGCHING-JONES, R.; ROJAS-BOURRILLÓN, A. Características fermentativas y nutricionales del ensilaje de rastrojo de piña (*Ananas comosus*). **Agronomía Costarricense**, v. 33, n. 1, p. 1-15, 2009.

KUMMAR, S.; HEMAVATHI, A. B.; HEBBAR, H. U. Affinity based reverse micellar extraction and purification of bromelian from pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill) waste. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 5, p. 1216-1220, 2011].

LEAL, F.; ANTONI, M.G. Espécies del género *Ananas*: origem y distribución geográfica. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 29, p. 5-12, 1981].

LEAL, F.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G. Pineapple. In: JANICK, J.; MOORE, J.N. (Ed.) **Fruit breeding tree and tropical fruits**. John Wiley, v. 1, p. 515-557, 1996.

LEÃO, A. L.; CARASCHI, J. C.; TAN, I. H. Curauá fiber- A tropical natural fiber from Amazon - potential and applications in composites. In: FROLLINI, E.; LEÃO, A. L.; MATTOSO, L. H. C. (Ed.). **Natural polymers and agrofibers composites**, Embrapa Instrumentação Agropecuária: São Carlos, p. 257-272, 2000.

LEÃO, A. L.; MACHADO, I. S.; SOUZA, S. F.; SORIANO, L. Production of curauá (*Ananas erectifolius* L.B. Smith) fibers for industrial applications: characterization and micropropagation. **Acta Horticulturae**, v. 822, p. 227-238, 2009.

LOBATO, A. M. B. Consórcio curauá - mandioca sob linhas de transmissão de energia elétrica na Amazônia: fertilidade do solo e produtividade. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém-Pará, 2010.

LOUSADA JÚNIOR, J. E.; COSTA, J. M. C.; NEIVA, J. N. M.; RODRIGUEZ N. M. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 1, p. 70-76, 2006.

LUTHER. H. E. An alphabetical list of Bromeliad binomials. 13. ed. Sarasota, FL: The Marie Selby Botanical Gardens; **The Bromeliad Society International**, 2012.

MANETTI, L. M.; DELAPORTE, R. H.; LAVERDE JUNIOR, A. Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. **Química Nova**, v. 32, n.7, p.1885-1897, 2009.

MARINELLI, A. L.; MONTEIRO, M. R.; AMBRÓSIO, J. D.; BRANCIFORTI, M. C.; KOBAYASHI, M.; NOBRE, A. D. Desenvolvimento de compósitos poliméricos com fibras vegetais naturais da biodiversidade: uma contribuição para a sustentabilidade amazônica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 18, n. 2, p. 92-99, 2008.

MULCAHY, D. L.; CRESTI, M.; SANSVINI, S.; DOUGLAS, G. C.; LINSKENS, H. F.; BERGAMINI MULCAHY, G.; VIGNANI, R.; PANCALDI, M. The use of random amplified polymorphic DNAs to fingerprint apple genotypes. **Scientia Horticulturae**, v. 54, n. 2, p. 89-96, 1993.

NOORMOHAMMADI, Z.; HASHEMINEJAD-AHANGARANI, F. Y.; SHEIDAI, M.; GHASEMZADEH-BARAKI, S.; ALISHAH, O. Genetic diversity analysis in Opal cotton hybrids based on SSR, ISSR, and RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 1, p. 256-269, 2013.

OLIVEIRA, E. C. P.; LAMEIRA, O. A.; SOUSA, F. I. B.; SILVA, R. J. F. Estrutura foliar de curauá em diferentes intensidades de radiação fotossinteticamente ativa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 2, p. 163-169, 2008.

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

PEREIRA, F. D.; PINTO, J. E. B. P.; RODRIGUES, H. C. A.; ROSADO, L. D. S.; BEIJO, L. A.; LAMEIRA, O. A. Proliferação *in vitro* de brotos de curauá utilizando diferentes volumes de meio de cultura. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 2, n. 2, p. 102-106, 2006.

PEREIRA, F. D.; PINTO, J. E. B. P.; ROSADO, L. D. S.; RODRIGUES, H. C. A.; BERTOLUCCI, S. K. V.; LAMEIRA, O. A. Micropropagation of the Fiber-rich Amazonian Species *Ananas erectifolius* (Bromeliaceae). **HortScience**, v. 43, n. 7, p. 2134-2137, 2008.

RAKOCZY-TROJANOWSKA, M.; BOLIBOK, H. Characteristics and a comparison of three classes of microsatellite-based markers and their application in plants. **Celular & Molecular Biology Letters**, v. 9, n. 2, p. 221-238, 2004.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, v. 128, n. 1, p. 9-17, 2002.

ROSSI, N. D.; TAMBOURGI, E. B. Recuperação e concentração da bromelina a partir do abacaxi, utilizando o processo por membrana. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UNICAMP, 13., Campinas. **Resumos...** Campinas: UNICAMP, 2005.

SANEWSKI, G. M. Breeding *Ananas* for the cut-flower and garden markets. **Acta Horticulturae**, v. 822, p. 71-78, 2009.

SANTOS, P. A.; SPINACÉ, M. A. S.; FERMOSELLI, K. K. G.; DE PAOLI, M. A. Efeito da forma de processamento e do tratamento da fibra de curauá nas propriedades de compósitos com poliamida-6. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, n. 1, p. 31-39, 2009.

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

SANTOS, S. C.; FERNANDES, J. J. R.; CARVALHO, E. R.; GOUVEA, V. N.; LIMA, M. M.; DIAS, M. J. Utilização da silagem de restos culturais do abacaxizeiro em substituição à silagem de cana-de-açúcar na alimentação de ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v.15, n. 4, p. 400-408, 2014.

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

SENA NETO, A. R.; ARAUJO, M. A.; SOUZA, F. V.; MATTOSO, L. H.; MARCONCINI, J. M. Characterization and comparative evaluation of termal, structural, chemical, mechanical and morphological properties of six pineapple leaf fiber varieties for use in composites. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 529-537, 2013.

SILVA, A. M.; OLIVEIRA, R. L.; RIBEIRO, O. L.; BAGALDO, A. R.; BEZERRA, L. R.; CARVALHO, S. T.; ABREU, C. L.; LEÃO, A. G. Valor nutricional de resíduos da agroindústria para alimentação de ruminantes. **Comunicata Scientiae**, v. 5, n. 4, p. 370-379, 2014.

SILVA, K. V. P.; ALVES, A. A. C.; MARTINS, M. I. G.; MELO, C. A. F.; CARVALHO, R. Variabilidade genética entre acessos do gênero *Manihot* por meio de marcadores moleculares ISSR. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 9, p. 1082-1088, 2011.

SOUZA, E. H.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, F. V. D. Selection and use recommendation in hybrids of ornamental pineapple. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 45, n. 2, p. 409-416, 2014.

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

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; COSTA JR., D. S.; SANTOSSEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; LEDO, C. A. S. Genetic variation of the Ananas genus with ornamental potential. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, p. 1357-1376, 2012a.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; JUNGHANS, T. G.; SILVA, M. J. Micropropagação do Abacaxizeiro e Outras Bromeliáceas. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. (Org.). **Aspectos Práticos da Micropropagação de Plantas**. 2ed. Brasília: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, v. 1, p. 189-218, 2013.

SOUZA, S. F. Obtenção de nanofibras de curauá e aplicação como reforço em compósitos baseados em PVA. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2010.

SPINACÉ, M. A. S.; JANEIRO, L. G.; BERNARDINO, F. C.; GROSSI, T. A.; DE PAOLI, M. A. Poliolefinas reforçadas com fibras vegetais curtas: sisal vs. curauá. **Polímeros**, v. 21, n. 3, p. 168-174, 2011.

TANYA, P.; TAEPRAYOON, P.; HADKAM, Y.; SRINIVES, P. Genetic diversity among *Jatropha* and *Jatropha*-related species based on ISSR Markers. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 29, n. 1, p. 252-264, 2011.

TITA, S. P. S.; PAIVA, J. M. F.; FROLLINI, E. Resistência ao impacto e outras propriedades de compósitos lignocelulósicos: matrizes termofixas fenólicas reforçadas com fibras de bagaço de cana-de-açúcar. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 12, n. 4, p. 228-239, 2002.

USMAN, I. S.; ABDULMALIK, M. M.; SANI, L. A.; MUHAMMAD, A. N. Development of an efficient protocol for micropropagation of pineapple (*Ananas comosus* L. var. smooth cayenne). **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 18, p. 2053-2056, 2013.

WOLFE, A. D.; LISTON, A. Contributions of PCR-based methods to plant systematics and evolutionary biology. In: SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; DOYLE, J. J. (Ed.). **Molecular systematics of plants II: DNA sequencing**. p. 43-86, 1998.

ZAH, R.; HISCHIER, R.; LEÃO, A. L.; BRAUN, I. Curauá fibers in the automobile industry – a sustainability assessment. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 15, p. 1032-1040, 2007.

CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO CLONAL E BROMATOLÓGICA DE HÍBRIDOS DE ABACAXI DESENVOLVIDOS PARA A EXTRAÇÃO DE FIBRAS¹

¹Artigo a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Crop Science

AVALIAÇÃO CLONAL E BROMATOLÓGICA DE HÍBRIDOS DE ABACAXI DESENVOLVIDOS PARA A EXTRAÇÃO DE FIBRAS

RESUMO: A demanda que existe para o desenvolvimento de novos materiais sustentáveis vem crescendo muito nos últimos anos. Assim, o uso da fibra vegetal vem acompanhando essa tendência, principalmente, como reforço para o desenvolvimento de compósitos biodegradáveis. Neste contexto, o abacaxi tem um grande potencial pela qualidade de suas fibras já reconhecidas no curauá. Em vista disso, foram desenvolvidos híbridos de curauá a fim de ampliar a oferta de fibra de qualidade neste segmento promissor. Desta forma, neste trabalho objetivou-se realizar a avaliação clonal de quatro híbridos voltados para a produção de fibra (FIB-POT; FIB-NEG; FIB-BOY; FIB-EST), bem como realizar uma análise bromatológica a fim de avaliar o valor nutritivo das folhas e do bagaço pós desfibramento mecânico, tendo em vista o seu uso como fonte alternativa de alimentação animal. A avaliação clonal foi realizada com base nas diretrizes dos ensaios de DHE do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Os resultados mostraram híbridos bem uniformes, estáveis e que de fato se constituem em novidades para o mercado. Apenas um híbrido apresentou variação acima de 5% no segundo ciclo. Os ensaios bromatológicos evidenciaram que o bagaço após o desfibramento da folha pode se constituir em uma alternativa interessante para complementar a alimentação animal. Os estudos realizados mostram a possibilidade de se utilizar 100% da planta de abacaxi, seja após a colheita do fruto comestível ou ornamental.

Palavras-chave: *Ananas comosus* (L.) Merr., fibras vegetais, desfibramento mecânico, alimentação animal.

CLONAL AND BROMATOLOGICAL EVALUATION OF THE PINEAPPLE HYBRIDS DEVELOPED FOR FIBER EXTRATCTION

ABSTRACT: In the past few years, there has been an increasing demand for the development of new and sustainable materials. Thus, the use of plant fibers has followed this trend, especially as reinforcement for the development of biodegradable composites. In this context, pineapple has a great potential due to the quality of its fibers already recognized by the use of curaua fibers for the industry. In order to improve the supply of fibers pineapple hybrids from curaua were developed. Therefore, this study aimed at carrying out the clonal evaluation of four hybrids developed for fiber production (FIB-POT; FIB-NEG; FIB-BOY; FIB-EST) as well as performing a chemical analysis to assess the nutritive value of the whole leaves and leaf residues after mechanical defibration, in order to use it as an alternative source of animal feed. The clonal evaluation was carried out based on the guidelines of the DHE tests of the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA). The results showed very uniform and stable hybrids, which constitute a novelty for the market. Only one hybrid had a variation above 5% in the second cycle. The Bromatological assays showed that the residue after defibration may constitute an interesting alternative to supplement animal feed. Studies showed the possibility to use all parts of the plant after harvesting.

Palavras-chave: *Ananas comosus* (L.) Merr., plant fibers, mechanical defibration, animal feed.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo produtor mundial de abacaxi, com uma produção de 2,48 milhões de toneladas em 2013 (FAO, 2015). Assim, a utilização dos restos culturais, pode se tornar uma alternativa viável e econômica para complementar a alimentação animal. Esses restos culturais podem atingir até 50 toneladas de produção de massa verde por hectare, dependendo da cultivar e densidade do plantio (SANTOS et al., 2014).

Segundo Santos et al. (2014) o fruto do abacaxizeiro comercializado representa 38% da planta, o restante da planta é considerado resíduo agrícola. Dessa forma, têm surgido diversas maneiras de utilização desse material, seja como fenação ou ensilagem, mas sempre com o objetivo de fornecer alimento no período de escassez de forragem. A folha de abacaxi como complemento alimentar animal já é relatada com resultados considerados satisfatórios (FAGUNDES; FAGUNDES, 2010). Entretanto, os registros existentes se referem aos abacaxis cultivados para alimentação.

O curauá (*Ananas comosus* var. *erectifolius*) é um abacaxi típico da região amazônica e cuja planta se caracteriza por folhas rígidas, eretas e com faces planas, podendo alcançar mais de um metro de comprimento e cinco centímetros de largura. Possuem fibras macias, porém com elevada resistência mecânica (SILVA; AQUINO, 2008).

A Embrapa Mandioca e Fruticultura possui um Banco Ativo de Germoplasma de Abacaxi (BAG Abacaxi) que conta atualmente com mais de 600 acessos conservados em condições de campo e que são foco de caracterizações variadas, buscando ampliar o leque de uso do pool gênico deste gênero (SOUZA et al., 2012). O programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura desenvolveu híbridos voltados para uso ornamental, que, no entanto, tinham como um dos parentais o curauá (BGA-739 e BGA-804) (SOUZA et al., 2014). Dessa forma, foi iniciado um trabalho com a finalidade de caracterizar tanto alguns acessos do BAG Abacaxi (SENA NETO et al., 2013) como os híbridos de curauá (SENA NETO et al., 2015) quanto à qualidade de suas fibras para uso como reforço em matrizes poliméricas. A partir desse trabalho de caracterização foram obtidos resultados que serviram de base para a seleção dos híbridos que

constam no presente trabalho visando o uso de suas fibras como reforço mecânico em compósitos poliméricos.

A busca por novos materiais e a maximização dos recursos naturais através de novos processos e produtos, tem levado ao estudo e exploração de materiais oriundos de fontes renováveis (JOHN; THOMAS, 2008). Estudos demonstram que as fibras vegetais combinam boas propriedades mecânicas com uma baixa massa específica e boa estabilidade dimensional, aliado ao fato de produzirem um impacto ambiental relativamente menor quando comparadas com as fibras de vidro (BOURMAUD; BAILEY, 2007). Nesse contexto, os compósitos biodegradáveis têm alcançado relevância considerável no desenvolvimento de novos materiais (LEVY NETO; PARDINI, 2006).

As fibras lignocelulósicas constituem-se numa importante classe de materiais de reforço para matrizes poliméricas por apresentarem muitas vantagens sobre as fibras sintéticas, a saber: a baixa densidade, boas propriedades térmicas, biodegradabilidade, melhores propriedades mecânicas específicas, além de serem menos abrasivas aos equipamentos de processamento de polímeros (BLEDZKI et al., 1996).

As fibras extraídas das folhas do curauá têm recebido especial atenção por parte dos pesquisadores por destacarem-se com propriedades mecânicas adequadas para o reforço de matrizes em relação às outras fibras vegetais gerando, portanto, grande potencial de aplicação na área de polímeros reforçados (SPINACÉ et al., 2011).

Clones desses híbridos selecionados pela qualidade de suas fibras foram avaliados quanto à homogeneidade de suas plantas, sua estabilidade genética considerando dois ciclos, assim como realmente é uma novidade para o setor. Esse tipo de avaliação é também exigida pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) quando se pretende a proteção intelectual de uma nova cultivar e se constitui no ensaio de DHE (distinguilidade, homogeneidade e estabilidade) (BRASIL, 2011).

Assim, essa avaliação clonal foi baseada em uma lista de descritores já publicados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o abacaxizeiro ornamental, onde foram também consideradas outras características que não constam nesta lista, tais como: porcentagem de fibra seca por planta (%)

e o comprimento da fibra (cm). Essas características são importantes para se considerar a capacidade de produção de fibra dos híbridos em estudo.

Outro aspecto considerado neste trabalho foi o aproveitamento completo da folha do abacaxizeiro depois da colheita e da retirada da fibra. Ao final do desfibramento da folha todo o tecido verde (bagaço) que circunda a fibra torna-se resíduo, que, no entanto, pode ser aproveitado, principalmente como um complemento na alimentação animal. Segundo Fagundes e Fagundes (2010) o que mais onera a pecuária é a alimentação animal, o que tem incrementado a busca por alimentos alternativos e que possam enriquecer as rações.

A utilização de restos culturais de determinadas plantações que anteriormente eram negligenciadas vêm ganhando maior importância como fontes de volumoso para bovinos e outros animais. A fibra vegetal é considerada um alimento funcional, pois desempenha no organismo funções importantes como intervir no metabolismo dos lipídios e carboidratos e na fisiologia do trato gastrointestinal, além de assegurar uma absorção mais lenta dos nutrientes e promover a sensação de saciedade (OLIVEIRA; MARCHINI, 1998).

Os híbridos estudados neste trabalho podem ser cultivados com dupla finalidade, o uso ornamental (SOUZA et al., 2012) e o uso de suas folhas para a produção de fibras (SENA NETO et al., 2015). Assim, o aproveitamento de seu bagaço resulta no aproveitamento completo da planta no seu ciclo de cultivo.

Desta forma, o trabalho objetivou realizar a avaliação clonal de híbridos de abacaxi voltados para a produção de fibra, bem como, realizar uma análise bromatológica a fim de avaliar o valor nutritivo das folhas inteiras e do bagaço após desfibramento mecânico, tendo em vista, o seu uso como fonte de alimentação animal.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no campo experimental da Embrapa Mandioca e Fruticultura, localizada na cidade de Cruz das Almas, Bahia. O município está situado a 12°40'19" de Latitude Sul e 39°06'22" de Longitude Oeste a 220 m acima do nível do mar. Segundo a classificação de Köppen (1936), o clima é tropical quente e úmido, Aw a Am, com temperatura média anual de 24,5°C,

umidade relativa de 80% e precipitação média de 1.249,7 mm anuais. O solo é classificado em latossolo amarelo distrófico A moderado, textura franco-arenosa.

Foram selecionados quatro híbridos previamente caracterizados para qualidade de fibra de acordo com Sena Neto et al. (2015), os quais apresentaram resultados satisfatórios, sendo estes: FIB-POT; FIB-NEG; FIB-BOY; FIB-EST. Os híbridos foram cultivados de acordo com as recomendações do MAPA com 20 plantas por híbrido e cultivares referência [*Ananas comosus* var. *erectifolius* (BGA-EREC) e *A. comosus* var. *bracteatus* (BGA-BRAC)], cultivados em fileira simples e respeitando o espaçamento utilizado na cultura. Foram considerados dois ciclos consecutivos, sob as mesmas condições de cultivo, manejo e tratamentos culturais. As cultivares referência foram escolhidas devido ao reconhecido uso de suas fibras, seja para a indústria ou para artesanato.

Com aproximadamente 12 meses, as plantas foram induzidas ao florescimento com Etrhel 240[®] (Ethepon) a 500 ppm do princípio ativo mais 3% de uréia via pulverização na roseta foliar.

Avaliação clonal

A partir da emergência da inflorescência na roseta foliar, iniciou-se a caracterização das plantas aplicando-se os 30 descritores, sendo 09 quantitativos e 21 qualitativos (DOU nº 2 de 03 de janeiro de 2013, seção 01, páginas 4 e 5 do MAPA). A maioria dos descritores foram aplicados logo após o fechamento da última flor, assim como para a avaliação de cores foi utilizada a Tabela RHS (Royal Horticultural Society).

Foram calculadas as seguintes estatísticas descritivas: média e desvio padrão, considerando cada híbrido avaliado. Foi utilizado o programa estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 2010).

Uma análise conjunta dos dados qualitativos e quantitativos foi realizada para determinação da distância genética, com base no algoritmo de Gower (1971).

Os agrupamentos hierárquicos dos acessos foram obtidos pelo método de UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Usingan Arithmetic Average*) a partir da distância euclidiana média entre todos os acessos. A validação dos agrupamentos foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenético (SOKAL; ROHLF, 1962).

Foi utilizado o programa estatístico (R Development Core Team, 2006) para as análises de distância genética, de agrupamentos hierárquicos e de correlação cofenética. A significância da correlação cofenética e a correlação entre as matrizes (1 ciclo e 2 ciclo) foi calculada pelos testes *t* e de Mantel (10.000 permutações). O dendrograma foi gerado com base na matriz de distância pelo programa MEGA 4 (TAMURA et al., 2007).

Caracterização da produção de fibras

Foram selecionadas de forma aleatória após a frutificação, três plantas por híbrido, que foram submetidas às seguintes avaliações de média: massa fresca (g), massa seca (g), número de folhas por planta, porcentagem de fibra seca por planta após desfibramento mecânico (%) e comprimento da fibra (cm). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey no nível de 5 % de probabilidade no programa SAS (SAS INSTITUTE, 2010).

Análises bromatológicas

As análises para as avaliações bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia. Para as avaliações foram utilizadas amostras de folhas dos mesmos híbridos, bem como das cultivares referência. Para o estudo foram considerados dois tratamentos: amostras de folhas inteiras e amostras do bagaço das folhas após desfibramento mecânico, sendo consideradas duas repetições por híbrido para cada avaliação. As amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C, por 120 horas para determinação de matéria parcialmente seca, moídas em moinho estacionário “Thomas Wiley” modelo 4 com peneira de malha de 1 mm de diâmetro. Em seguida as amostras foram embaladas e identificadas para determinação dos teores de matéria seca (MS), extrato etéreo (EE) estimado através do método de *randall* (INCT-CA G-005/1), proteína bruta (PB) e cinzas (AOAC, 1990). Para a fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG), utilizou-se metodologia proposta por Van Soest et al. (1991) adaptado por Mertens (2002).

Foram realizadas análises de variância com os dados. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey no nível de 5 % de probabilidade no programa

SAS (SAS INSTITUTE, 2010), a fim de avaliar a resposta dos genótipos dentro de cada tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação clonal

Dados referentes aos descritores quantitativos dos híbridos avaliados bem como das cultivares referência estão na Tabela 1. Os valores obtidos dos híbridos a partir da aplicação dos descritores quantitativos no primeiro e segundo ciclos mostram um comportamento estável, com pequenas variações que não comprometem a morfologia das plantas e seu desempenho nas condições estabelecidas para as avaliações.

Descritores quantitativos caracterizam-se por serem mensuráveis, controlados por vários genes e que sofrem grande influência do ambiente (IBPGR, 1983).

Assim, considerou-se que as pequenas variações observadas entre plantas (no mesmo ciclo) e entre um ciclo e outro de cada híbrido podem ter sido devido a fatores ambientais, tais como manchas de solo. Isso se confirmou pela homogeneidade morfológica que as plantas apresentaram em campo e posteriormente pela análise multivariada (Figura 1).

O maior valor de desvio padrão foi encontrado para a variável altura da planta no híbrido FIB-EST nos dois ciclos de avaliação com valores bem próximos para os dois ciclos em avaliação. Entretanto, o menor valor encontrado foi para o diâmetro do pedúnculo, para o híbrido FIB-POT nos dois ciclos consecutivos (Tabela 1).

A comparação entre os dois ciclos nos permite inferir principalmente sobre a estabilidade genética dos híbridos e as características que foram selecionadas.

A estabilidade das cultivares referência pode ser confirmada pelos dados observados nos dois ciclos com baixos valores de desvio padrão.

O critério para escolher as variedades referências foram, no caso do *A. comosus* var. *erectifolius* (curauá) o uso já reconhecido de suas fibras, e no caso do *A. comosus* var. *bracteatus* o eventual uso de suas fibras para artesanatos de finalidades variadas e de uso popular.

Tabela 1. Características morfológicas quantitativas dos quatro híbridos e das cultivares referência de abacaxizeiros para fibras. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2015.

Variáveis	FIB-POT		FIB-BOY		FIB-NEG	
	1º ciclo	2º ciclo	1º ciclo	2º ciclo	1º ciclo	2º ciclo
Altura da planta (cm)	88,62 ± 11,56	83,35 ± 12,91	87,11 ± 14,22	93,84 ± 7,49	69,75 ± 11,00	67,39 ± 5,93
Comprimento da folha (cm)	80,30 ± 12,90	88,68 ± 12,66	80,99 ± 9,61	79,54 ± 6,28	67,83 ± 12,28	62,07 ± 7,94
Largura da folha (cm)	3,89 ± 0,54	4,81 ± 0,89	3,99 ± 0,67	4,72 ± 0,32	4,42 ± 0,78	4,50 ± 0,66
Comprimento do pedúnculo (cm)	37,30 ± 1,75	36,60 ± 2,32	40,45 ± 4,11	46,28 ± 5,33	23,75 ± 5,95	24,22 ± 2,96
Diâmetro do pedúnculo (cm)	1,40 ± 0,12	1,58 ± 0,12	1,25 ± 0,13	1,62 ± 0,17	1,49 ± 0,38	1,37 ± 0,17
Comprimento do sincarpo (cm)	4,89 ± 0,34	4,45 ± 0,61	5,05 ± 0,65	5,72 ± 0,67	4,99 ± 1,00	4,90 ± 0,71
Diâmetro do sincarpo (cm)	4,43 ± 0,34	4,39 ± 0,23	3,99 ± 0,46	4,37 ± 0,20	4,67 ± 0,50	4,61 ± 0,43
Comprimento da coroa (cm)	3,95 ± 0,97	4,16 ± 0,79	4,27 ± 0,55	5,07 ± 0,60	4,31 ± 0,38	4,45 ± 0,72
Diâmetro da coroa (cm)	3,32 ± 0,57	4,53 ± 0,47	3,83 ± 0,27	4,40 ± 0,48	3,67 ± 0,48	3,79 ± 0,55
	FIB-EST		<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i>		<i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	
Altura da planta (cm)	83,90 ± 17,85	80,10 ± 17,74	79,14 ± 6,15	82,13 ± 7,10	98,20 ± 12,33	111,51 ± 10,22
Comprimento da folha (cm)	81,60 ± 10,49	81,65 ± 14,68	71,45 ± 4,25	70,22 ± 5,13	90,00 ± 5,18	94,40 ± 4,65
Largura da folha (cm)	4,65 ± 0,56	4,56 ± 0,49	3,21 ± 0,44	3,16 ± 0,48	4,22 ± 0,15	3,98 ± 0,45
Comprimento do pedúnculo (cm)	26,60 ± 5,37	28,13 ± 3,61	40,80 ± 1,32	42,53 ± 1,59	36,23 ± 6,38	38,22 ± 4,45
Diâmetro do pedúnculo (cm)	1,62 ± 0,19	1,71 ± 0,27	0,81 ± 0,08	0,83 ± 0,12	1,97 ± 0,22	1,95 ± 0,22
Comprimento do sincarpo (cm)	4,75 ± 0,58	4,19 ± 0,84	5,53 ± 0,68	6,30 ± 0,55	18,23 ± 4,32	17,75 ± 3,25
Diâmetro do sincarpo (cm)	5,61 ± 0,99	6,07 ± 0,84	5,49 ± 0,33	5,98 ± 0,48	9,44 ± 2,08	9,04 ± 2,00
Comprimento da coroa (cm)	3,93 ± 0,66	4,95 ± 1,43	4,12 ± 0,87	4,98 ± 0,98	7,12 ± 0,55	6,95 ± 0,77
Diâmetro da coroa (cm)	7,06 ± 1,08	7,86 ± 1,41	4,05 ± 0,44	4,15 ± 0,23	6,44 ± 0,83	6,55 ± 0,44

Na Figura 1 é apresentado o dendrograma de dissimilaridade genética entre os quatro híbridos, e as cultivares referências para os dois ciclos considerando a análise conjunta dos descritores quantitativos e qualitativos pelo método UPGMA com base no algoritmo de Gower (1971).

A análise multivariada permitiu a formação de sete grupos em cada dendrograma apresentado, que representam os dois ciclos consecutivos de cultivo.

O coeficiente de correlação cofenética para o dendrograma do primeiro ciclo com valor de $r = 0,9280$, ($P < 0,0001$, 10.000 permutações) e segundo ciclo com valor de $r = 0,9304$, ($P < 0,0001$, 10.000 permutações), demonstraram um ajuste positivo entre a representação gráfica das distâncias e a sua matriz original (ROHLF; FISHER, 1968). A correlação entre as matrizes do 1 e 2 ciclo foi calculada pelos testes t e de Mantel (10.000 permutações) altamente significativa pelo teste t com 0,8728.

No G1 encontra-se a cultivar referência, *A. comosus* var. *bracteatus*, a qual foi utilizada como parental para a obtenção dos híbridos FIB-POT e FIB-EST. Esse genótipo apresenta plantas com altura média de $98,20 \pm 12,33$ cm de comprimento, folhas largas com $4,22 \pm 0,15$ cm de largura, e compridas $90,00 \pm 5,18$ cm de comprimento, armadas com espinhos grossos, espaçados e ascendentes. O fruto tem tamanho médio de $18,23 \pm 4,32$ cm de comprimento e sustentado por um pedúnculo de tamanho médio $36,23 \pm 6,38$ cm de comprimento e diâmetro aproximado de $1,97 \pm 0,22$ cm.

O grupo G2 foi formado pelos 20 clones do híbrido FIB-POT que caracterizou-se por apresentar hábito ereto, semelhante ao parental *A. comosus* var. *erectifolius*, com altura média de $88,62 \pm 11,56$ cm de comprimento, folhas variegadas com distribuição marginal e presença de antocianina nas folhas que apresentaram comprimento e largura média de $80,30 \pm 12,90$ cm e $3,89 \pm 0,54$ cm, respectivamente. Possuem pedúnculo ereto e tamanho médio de $23,75 \pm 1,75$ cm de comprimento e $1,40 \pm 0,12$ cm de diâmetro. O sincarpo é cilíndrico de cor vermelho (FAN1 52D) possui brácteas longas cujo ápice é agudo, cobrindo totalmente os frutinhos. Na coroa estão presentes duas cores, conforme descrição na Tabela 2 e Figura 2.

Os clones do híbrido FIB-NEG encontram-se no grupo G3, o qual caracteriza-se por apresentar plantas de hábito ereto semelhante também ao

parental *A. comosus* var. *erectifolius*, porém com porte reduzido, com altura média de $69,75 \pm 11,00$ cm de comprimento e folhas mais curtas ($67,83 \pm 12,28$ cm de comprimento), com coloração vermelho-alaranjado (FAN1 N34A), presença de antocianina, variação e ausente de espinhos. O pedúnculo é ereto e apresentou tamanho médio de $23,75 \pm 5,95$ cm de comprimento por $1,49 \pm 0,38$ cm de diâmetro. O sincarpo de coloração vermelho-alaranjado (FAN1 N34A) é cilíndrico com brácteas longas e ápice agudo cobrindo totalmente os frutinhos.

O G4 foi formado por uma única repetição do FIB-EST, deixando evidente a existência de uma planta fora do padrão do híbrido (*off-type*). Uma das características observadas e que explicou esse comportamento diferenciado foi a presença de espinhos nas folhas, que é característico do seu parental masculino o *A. comosus* var. *bracteatus*. Essa alteração se repetiu no segundo ciclo em duas plantas presentes, aumentando assim a frequência de plantas variantes de 5 % no primeiro ciclo a 10 % no segundo ciclo. A importância deste registro deve-se, principalmente em caso de atendimento as normas do MAPA para proteção de cultivares, onde o valor máximo tolerado para variação de plantas é de 5 %.

As demais repetições desse híbrido formaram o grupo G5, com plantas de hábito ereto, altura média de $83,90 \pm 17,85$ cm, folhas com comprimento médio de $81,60 \pm 10,49$ cm e largura média de $4,65 \pm 0,56$ cm, com coloração vermelho-acinzentado (FAN4 179A), presença de antocianina, variação e ausência de espinhos. O pedúnculo é ereto e apresentou tamanho médio de $26,60 \pm 5,37$ cm de comprimento. Apresenta sincarpo cilíndrico de cor vermelho-acinzentado (FAN4 179B) com brácteas longas de ápice agudo e cobrindo totalmente os frutinhos. A coroa apresenta duas cores distintas, conforme descrição na Tabela 2.

O grupo G6 foi formado pelos 20 clones do FIB-BOY, que possui hábito ereto e altura média de $87,11 \pm 14,22$ cm. As folhas apresentam comprimento e largura média de $80,99 \pm 9,61$ e $3,99 \pm 0,67$ cm, respectivamente. Possuem pedúnculo com comportamento ereto e tamanho médio de $40,45 \pm 4,11$ cm de comprimento e $1,25 \pm 0,13$ cm de diâmetro. As plantas possuem sincarpo em forma cilíndrica e cor vermelho-acinzentado (FAN4 182A) com brácteas longas, ápice agudo, que também cobrem totalmente os frutinhos.

A cultivar referência, *A. comosus* var. *erectifolius*, utilizada como parental para todos os híbridos presentes nesse estudo, formou o G7. Esse genótipo apresenta plantas de hábito ereto, folhas lisas e arroxeadas com comprimento

médio de $71,45 \pm 4,25$ cm e largura de $3,21 \pm 0,44$ cm. O pedúnculo é longo, ereto, sem deformações e com aproximadamente 40,80 cm de comprimento e $0,81 \pm 0,08$ cm de diâmetro. A inflorescência possui brácteas florais pequenas e lisas, o sincarpo é pequeno com aproximadamente $5,53 \pm 0,68$ cm de comprimento por $5,49 \pm 0,33$ cm de diâmetro, de formato ovóide e com uma polpa escassa e fibrosa.

Os híbridos estudados expressaram resultados equivalentes nos dois ciclos de cultivo para todas as variáveis, com exceção de FIB-EST como já explicitado acima. A partir da análise multivariada foi possível comprovar a homogeneidade entre plantas de cada híbrido, assim como comparar os dois ciclos de cultivo e comprovar a estabilidade genética dos mesmos e a diferença em relação às cultivares referências, comprovando assim a distinguibilidade.

Assim, é possível afirmar de forma conclusiva que, dos quatro híbridos testados, três apresentam potencial para serem lançados como novas cultivares (FIB-POT, FIB-NEG e FIB-BOY). Esses híbridos apresentaram, nos dois ciclos, alterações discretas quanto aos dados quantitativos, que são fortemente influenciados pelas condições ambientais, logo, se a diferença entre as plantas é devido ao ambiente, estes efeitos não serão transmitidos aos clones. Ao que tange os dados qualitativos os híbridos mantiveram suas características nos diferentes períodos de avaliação, com exceção apenas do FIB-EST, o qual apresentou plantas desuniformes quanto à presença de espinhos nas folhas e diferenças quanto ao formato do fruto (Figura 2 h).

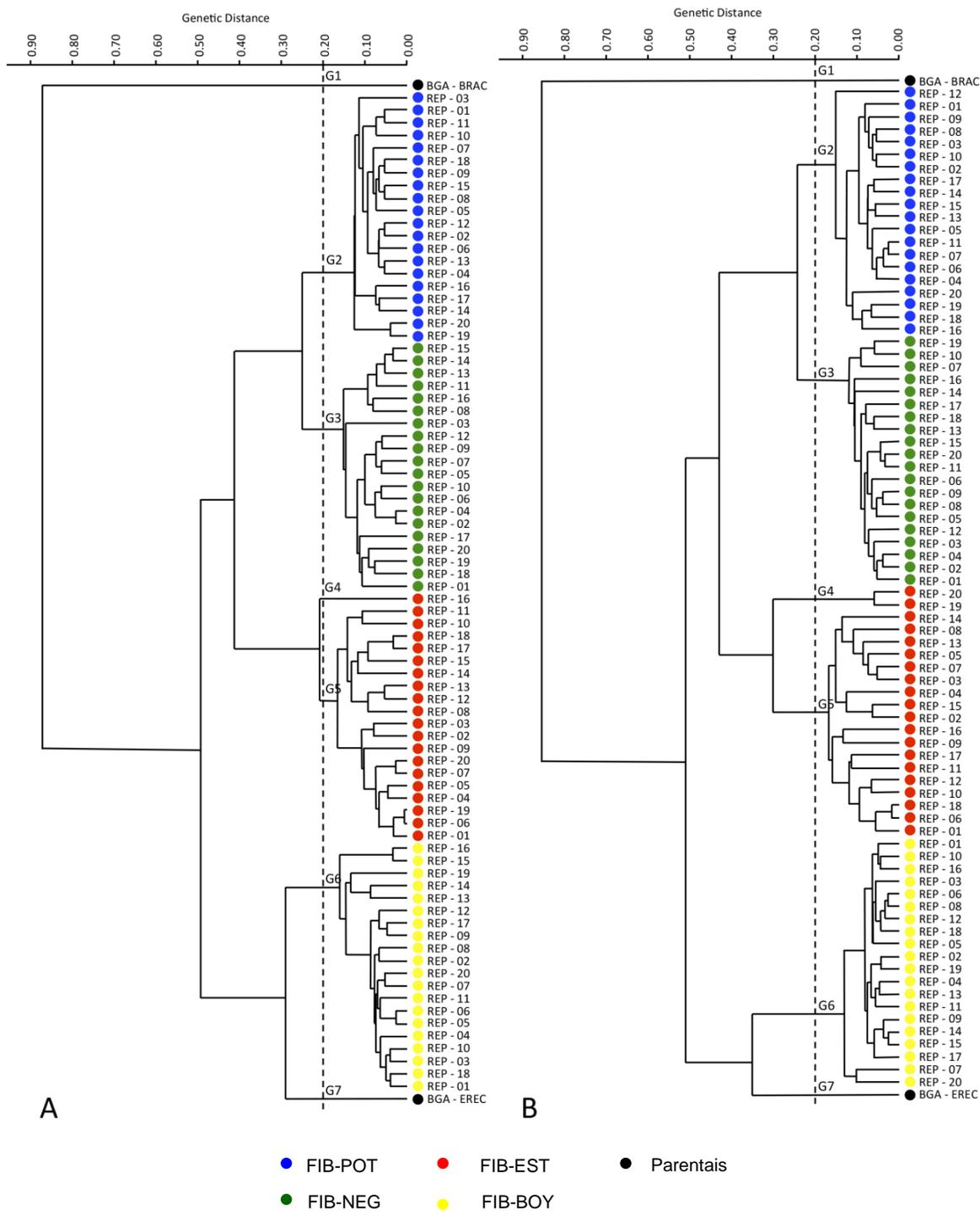


Figura 1. Dendrograma de dissimilaridade genética entre quatro híbridos e as cultivares referência de abacaxizeiros ornamentais no primeiro (A) e segundo ciclo (B), obtido pelo método UPGMA com base no algoritmo de Gower (1971), a partir dos descritores qualitativos e quantitativos. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2015.

Sobrep. das brác. em rel. ao frutinho	Total	Total	Total	Total	Parcial	Total
Coloração das brácteas do frutinho	Vermelho FAN1 51B	Vermelho- acinzentado FAN4 182A	Vermelho- acinzentado FAN4 180B	Vermelho- alaranjado FAN1 N34A	Vermelho FAN1 51B	Vermelho FAN1 54B
Brácteas na base da coroa	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente
Cor das brác. na base em rel. à coroa	Diferente	-	Diferente	Diferente	Diferente	Diferente
Coloração das brácteas da coroa	Vermelho FAN1 51A	Vermelho- acinzentado FAN4 179A	Vermelho- acinzentado FAN4 179 ^a	Vermelho- alaranjado FAN1 N34A	Vermelho FAN1 184A	Vermelho FAN1 52B
Rel. do comp. coroa/ comp. do sincarpo	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa
Rel. do diâm. da coroa/ diâm. do sincarpo	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa	Baixa
Número de cores da coroa	Duas	Uma	Duas	Duas	Duas	Duas
Formato do ápice da folha da coroa	Moderadamente aguda	Fortemente aguda	Moderadamente aguda	Moderadamente aguda	Moderadamente aguda	Acuminada

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



Figura 2. a) experimento de DHE; b) fibras dos híbridos após o processamento em desfibradeira; c) parental *Ananas comosus* variedade *bracteatus*; d) parental *Ananas comosus* variedade *erectifolius*; e- híbrido FIB-POT; f) híbrido FIB-BOY; g) híbrido FIB-NEG; h) híbrido FIB-EST e todas as variações encontradas nas hastes e folhas incluindo presença de espinhos que estão indicadas por setas. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2015.

Caracterização da produção de fibras

Quando analisada sob o aspecto econômico uma série de fatores devem ser levados em consideração para averiguar se determinada espécie vegetal tem potencial para ser utilizada como fonte de fibra para os mais diversos usos. Dentre estes fatores pode ser destacada a capacidade de produção, que pode ser medida, por quanto cada variedade produz de fibra até quanto dessa variedade está sendo cultivada.

Na relação de descritores utilizados neste trabalho não existem características que possam quantificar a fibra de determinado genótipo. Dessa forma, decidiu-se avaliar cinco características quantitativas relacionadas à fibra e a partir disso determinar o potencial de produção de cada híbrido (Tabela 3).

Tabela 3. Características de produção de fibra dos híbridos de abacaxizeiros. Cruz das Almas, Bahia, Brasil, 2015.

Genótipos	Massa Fresca Planta (g)	Massa Seca Planta (g)	Nº de Folhas	Fibra Seca por planta (%)	Comp. da Fibra (cm)
BGA EREC	1.497,00 a	241,00 b	30,00 a	4,28 a	87,33 a
BGA BRAC	1.512,00 a	370,00 a	37,50 a	*	*
FIB-POT	1.421,33 a	282,66 b	46,67 a	4,39 a	88,00 a
FIB-BOY	952,66 b	136,00 c	30,00 a	2,65 b	90,00 a
FIB-NEG	959,33 b	156,67 c	36,33 a	2,82 b	65,00 b
FIB-EST	1.210,00 ab	205,33 b	42,67 a	4,08 a	82,33 a

Médias seguidas por letras minúsculas na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

* Dados não coletados.

n = média de três plantas

Das características avaliadas, a porcentagem de fibra seca por planta é a que permite fazer as inferências mais aproximadas sobre o potencial de produção de fibras de cada híbrido. Dos resultados apresentados na Tabela 3 a maior quantidade de massa seca encontrada foi do *A. comosus* var. *bracteatus*, o qual diferiu significativamente dos demais. Entretanto, os melhores resultados para a porcentagem de fibra seca foram encontrados para FIB-POT, FIB-EST e para a cultivar referência *Ananas comosus* var. *erectifolius*, o curauá. Esse último apresentou o mais alto rendimento por folha, não tendo sido superado por nenhum outro (4,28% em 30 folhas).

Segundo Aquino (2006) de cada folha de abacaxizeiro pode ser extraído 2,8 a 4,5% de fibras, dados similares aos que foram encontrados neste trabalho. A produção de massa verde do abacaxizeiro por hectare plantado irá depender da cultivar, da densidade do plantio, e do rendimento de fibra por folha. Assim dependendo do número de plantas por hectare, por exemplo, o *A. comosus* cv. Pérola com densidade de 40.000 plantas por hectare, pesando,

aproximadamente, 3,5 kg de massa fresca, estima-se a produção de 140 toneladas de massa verde por hectare (SANTOS, 2008).

O híbrido FIB-POT, já cultivado para uso ornamental, na densidade de 80.000 plantas por hectare, se considerarmos os resultados obtidos nesta avaliação, poderá produzir em torno de 350 toneladas por hectare. Neste caso, como o sistema de produção para o abacaxi ornamental utiliza uma densidade muito superior ao comestível, a produção de fibras poderá ser significativamente maior (CARVALHO et al., 2014).

Avaliação bromatológica

Na Tabela 4, estão apresentados os resultados das análises da folha inteira, antes do desfibramento, e do bagaço, após o desfibramento mecânico. Esse estudo visou, não apenas conhecer se os genótipos serviriam para alimentação animal, mas também identificar se haveria diferença quanto aos genótipos avaliados e se a retirada da fibra das folhas de abacaxizeiros comprometeria a utilização dos mesmos para alimentação animal.

Tabela 4. Composição químico-bromatológica da folha inteira e do bagaço de folha de abacaxizeiros após extração das fibras, em porcentagem de massa seca.

Genótipo	Massa Seca (%)		Cinzas (%)	
	Folha inteira	Bagaço	Folha inteira	Bagaço
FIB-EST	16,22 cB	20,50 cA	4,40 aB	7,05 aA
FIB-BOY	12,82 fB	17,11 eA	6,75 aA	6,77 aA
FIB-NEG	14,75 eB	19,14 dA	5,60 aA	6,35 aA
FIG-POT	18,04 aB	23,06 bA	3,93 aA	6,30 aA
<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i>	15,93 d	-	3,65 a	-
<i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	17,06 bB	29,72 aA	4,90 aA	6,10 aA
CV (%)	0,24		20,17	
Genótipo	Fibra em detergente neutro (%)		Fibra em detergente ácido (%)	
	Folha inteira	Bagaço	Folha inteira	Bagaço
FIB-EST	68,30 aA	63,15 aB	46,10 aA	36,55 aB
FIB-BOY	62,60 bA	57,65 bB	40,65 bA	32,45 bB
FIB-NEG	58,95 bA	49,20 cB	36,05 cA	25,15 dB
FIG-POT	60,45 bA	57,70 bB	39,70 bA	30,95 bcB
<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i>	62,10 b	-	32,45 d	-
<i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	59,60 bA	52,60 cB	38,70 bcA	29,15 cB
CV (%)	0,24		2,81	
Genótipo	Lignina (%)		Extrato etéreo (%)	
	Folha inteira	Bagaço	Folha inteira	Bagaço
FIB-EST	16,50 aB	19,97 aA	1,62 aA	1,18 aA
FIB-BOY	12,45 bB	16,63 bcA	1,70 aA	1,22 aA
FIB-NEG	10,85 bB	14,76 cA	0,77 bB	1,47 aA
FIG-POT	11,95 bB	17,12 abcA	1,47 abA	1,10 aA
<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i>	10,35 b	-	1,95 a	-
<i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	16,75 aB	19,56 abA	1,40 abA	1,21 aA
CV (%)	6,90		19,65	
Genótipo	Proteína bruta			
	Folha inteira	Bagaço	Folha inteira	Bagaço
FIB-EST	5,40 aB		8,51 aA	
FIB-BOY	7,47 aA		6,89 abA	
FIB-NEG	5,37 aA		6,46 abA	
FIG-POT	5,14 aA		5,76 bA	
<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i>	5,49 a		-	
<i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	6,71 aA		7,83 abA	
CV (%)			11,76	

Médias seguidas por letras minúsculas na coluna e maiúscula nas linhas não diferem pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Pode-se observar que a porcentagem de massa seca na folha inteira no híbrido FIB-POT diferiu significativamente dos demais materiais com uma média

de 18,04 %. Em relação ao aproveitamento do bagaço da folha o *A. comosus* var. *bracteatus* apresentou uma maior porcentagem com 29,72 % de matéria seca. Comparando-se a folha inteira e o bagaço para essa variável, notou-se que para todos os genótipos estudados, o bagaço das folhas foi significativamente superior à utilização da folha inteira.

A ingestão de matéria seca é considerada o fator mais importante na determinação do desempenho animal, sendo o ponto responsável pelo ingresso de nutrientes, principalmente energia e proteína, necessários ao atendimento das exigências de manutenção e produção (PAULINO et al., 2001). A estimativa da quantidade de matéria seca digerida nos diversos compartimentos do trato gastrointestinal é de grande importância, uma vez que, de posse desses valores, pode-se conhecer o local de absorção dos demais nutrientes (RESENDE et al., 2001).

Dietas com baixa concentração de fibra podem resultar em uma menor ingestão total de matéria seca, uma vez que as exigências energéticas do animal são supridas em níveis mais baixos de ingestão (VAN SOEST; MERTENS, 1984).

Não houve diferença significativa para a porcentagem de cinzas entre os genótipos estudados. Ao comparar as folhas inteiras e o bagaço, o híbrido FIB-EST foi o único que apresentou diferença significativa.

O fornecimento adequado de minerais (porcentagem de cinzas) é importante para a otimização da atividade microbiana no rúmen (NRC, 1996), com uma deficiência produzindo impacto negativo sobre o crescimento microbiano, podendo induzir, ou não, uma redução da digestibilidade dos alimentos, dependendo da severidade da carência mineral. Lousada Júnior et al. (2006) cita em seu estudo acerca dos resíduos de frutas tropicais, incluindo abacaxizeiros, que os subprodutos se destacam pela grande variação nos conteúdos de cinzas, com o valor mínimo de 2,68 (acerola) e máximo de 14,57% (melão). Os valores no teor de cinzas encontrados no presente estudo variam de 3,65% na folha inteira do *A. comosus* var. *erectifolius* a 7,05% no bagaço da folha do híbrido FIB-EST.

Analisando-se a porcentagem de fibra em detergente neutro (FDN) e a fibra em detergente ácido (FDA) o híbrido FIB-EST diferiu significativamente dos demais para a folha inteira e o bagaço. É possível observar que a folha inteira apresentou diferença significativa em relação ao bagaço para todos os genótipos

avaliados. O tratamento da fibra reduziu os teores de FDA e FDN, o que é positivo sob o ponto de vista nutricional.

A adoção de um nível adequado de FDN, na ração animal, visa obter máxima produção, utilizando-se o máximo de volumoso sem, entretanto, provocar restrição na ingestão alimentar pelo efeito do enchimento do trato gastrointestinal, com conseqüente comprometimento do desempenho e elevação do tempo necessário para atingir o peso de abate (CARDOSO et al., 2006). A FDN representa a fração de carboidratos estruturais dos alimentos e tem sido relacionada à regulação da ingestão de alimentos, taxa de passagem e atividade mastigatória dos ruminantes (VAN SOEST; MERTENS, 1984).

Considera-se que a FDN tem um maior efeito de enchimento (saciedade) sendo considerada um preditor químico da ingestão voluntária de matéria seca, essa fibra geralmente fermenta e passa pelo retículo-rúmen mais lentamente do que os outros constituintes não fibrosos da dieta (PAULINO et al., 2001).

Macedo Júnior et al. (2007) explicam que embora a FDN tenha vantagens teóricas sobre fibra bruta e a fibra em detergente ácido na avaliação dos alimentos, é possível afirmar que nenhuma análise química isolada fornece todas as informações necessárias para estimar a disponibilidade ou consumo potencial dos alimentos.

A fração de FDA dos alimentos inclui celulose e lignina como componentes primários além de quantidades variáveis de cinza e compostos nitrogenados (BIANCHINI et al., 2007).

Quanto à porcentagem de lignina, os genótipos *A. comosus* var. *bracteatus* e o híbrido FIB-EST diferenciaram significativamente dos demais para os dois tratamentos. Comparando-se a folha inteira e o bagaço o teor de lignina foi significativamente superior no bagaço para todos os genótipos.

Van Soest & Wine (1968) citam que a lignina se associa aos carboidratos estruturais, celulose e hemicelulose, durante o processo de formação da parede celular, diminuindo significativamente a digestibilidade destes carboidratos das forragens.

Analisando o extrato etéreo nas folhas inteiras e bagaço, observou-se que o *A. comosus* var. *erectifolius* e os híbridos FIB-EST e FIB-BOY apresentaram diferença significativa para a folha inteira. Analisando o bagaço da folha observou-se que não houve diferença significativa entre os genótipos avaliados.

Embora com concentrações extremamente inferiores aos demais componentes na maioria dos alimentos produzidos em condições tropicais, o extrato etéreo apresenta posição central na obtenção de estimativas do teor energético, em razão de sua elevada concentração calórica (DETMANN et al., 2006).

Para a proteína bruta ao considerar a folha inteira observou-se que não houve diferença significativa entre os genótipos, entretanto no bagaço das folhas o híbrido FIB-EST foi superior aos demais genótipos.

Lousada Júnior et al. (2006) descreveram em seu estudo acerca dos subprodutos das frutas tropicais que de uma maneira geral, os subprodutos são fontes importantes de proteína, considerando que os valores de proteína bruta variaram de 8,35% a 17,33%, o que satisfaz à condição mínima para um bom funcionamento ruminal. No presente estudo foram encontrados teores de proteína bruta variando de 5,14% na folha inteira do FIB-POT a 8,51% no bagaço das folhas no FIB-EST. Valor esse, muitas vezes superior às gramíneas tropicais em pastagens.

Paulino et al. (2001) citam que nas folhas em processo de envelhecimento e em partes de flores, predominam a degradação de proteínas. Entre as influências ambientais, os efeitos sobre o metabolismo de proteínas são exercidos, principalmente, pela temperatura, e por fatores de estresse, como a seca e o excesso de salinidade. Vale destacar que as folhas aqui analisadas foram provenientes de plantas já frutificadas e as folhas já encontravam-se maduras. A utilização das folhas para alimentação animal seria um subproduto da cultura que poderia agregar valor ao sistema de produção do abacaxi.

Segundo Santos et al. (2014), ao estudar a composição química dos restos culturais do abacaxizeiro, observaram valores de 23,60% de matéria seca; 6,3% de proteína bruta; 73,1% de fibra em detergente neutro; 7,0% de lignina e 58% para os nutrientes digestíveis totais. Portanto, os restos culturais do abacaxizeiro caracterizam-se como alimento rico em fibra e baixo valor protéico.

Ao considerar os genótipos presentes no estudo é possível afirmar que o híbrido FIB-EST foi o que apresentou valores superiores aos demais materiais para quase todas as variáveis estudadas, considerando também que este apresentou o teor mínimo de proteína (8,51%) necessário para uma alimentação e um bom funcionamento ruminal.

CONCLUSÕES

Dos quatro híbridos estudados apenas FIB-EST não atendeu a todos os requisitos considerados pelo MAPA em ensaios de DHE registrando 10% de variação no segundo ciclo;

FIB-POT; FIB-NEG; FIB-BOY mostraram homogeneidade entre plantas, estabilidade genética entre ciclos de produção e distinguibilidade em relação a cultivares referências;

Os híbridos FIB-POT e FIB-EST apresentaram o melhor potencial de produção de fibras;

O bagaço das folhas após desfibramento dos híbridos avaliados possuem características apropriadas para serem utilizados na alimentação animal.

REFERÊNCIAS

ALLEN, M. S. Relationship between fermentation acid production in the rumen and requirement for physically effective fiber. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1447-1462, 1997.

AQUINO, M. S. D. Desenvolvimento de uma desfibradeira para obtenção da fibra da folha do abacaxi. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Mecânica), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2006.

ARRUDA, A. M. V.; PEREIRA, E. S.; MIZUBUTI, I. Y.; SILVA, L. D. F. Importância da fibra na nutrição de coelhos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 181-190, 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 15.ed. Arlington: 1117p. 1990.

BLEDZKI, A. K.; REIHMANE, S.; GASSAN, J. Properties and modification methods for vegetable fibers for natural fiber composites. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 59, n. 8, p.1329-1336, 1996.

BIANCHINI, W.; RODRIGUES, É.; JORGE, A. M.; ANDRIGHETO, C. Importância da fibra na nutrição de bovinos. **Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 8, n. 2, p. 1695-7504, 2007.

BOURMAUD, A.; BALEY, C. Investigations on the recycling of hemp and sisal fiber reinforced polypropylene composites. **Polymer Degradation and Stability**, v. 92, n. 6, p. 1034-1045, 2007.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, **Proteção de Cultivares no Brasil / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo, – Brasília : Mapa/ACS, 202 p. 2011.

CARDOSO, A. R.; PIRES, C. C.; CARVALHO, S.; GALVANI, D. B.; JOCHIMS, F.; HASTENPFLUG, M.; WOMMER, T. P. Consumo de nutrientes e desempenho de

cordeiros alimentados com dietas que contêm diferentes níveis de fibra em detergente neutro. **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 215-221, 2006.

CARVALHO, A. C. P. P.; SOUZA, F. V. D.; SOUZA, E. H. Produção de abacaxizeiro ornamental para flor de corte. (**Documentos / Embrapa Agroindústria Tropical**). Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 43 p. 2014.

CHESSON, A.; FORSBERG, C. W. Polysaccharids degradation by rumen microorganisms. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (Eds.). **The rumen microbial ecosystem**. Elsevier: London, p. 251–284, 1988.

DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S.; CAMPOS, J. M. S.; PAULINO, M. F.; OLIVEIRA, A. S.; SILVA, P. A. Estimação da digestibilidade do extrato etéreo em ruminantes a partir dos teores dietéticos: desenvolvimento de um modelo para condições brasileiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1469-1478, 2006.

OLIVEIRA, J. E. D.; MARCHINI, J.S. **Ciências Nutricionais**. Ed. Sarvier: São Paulo. 403 p. 1998.

FAGUNDES, N. S.; FAGUNDES, N. S. Restos culturais do abacaxizeiro na alimentação de ruminantes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 7, n. 3, p. 1243-1247, 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) Database, United States: Database.United States: **FAO/FAOSTAT**, Disponível em: <<http://faostat,fao.org>>, Acesso em: 12 Jun 2015.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties, **Biometrics**, v. 27, n. 4, p. 857-874, 1971.

IBPGR. **Genetic resources of Capsicum**. Roma: IBPGR Secretariat. p. 1-13. 1983.

JOHN, M. J.; THOMAS, S. Biofibres and biocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 1, n. 3, p. 343-364, 2008.

KÖPPEN, W. Das seographische system der climate. In: KOP PEN W,; GEIGER, R, (Ed,) **Handbuch der klimatologie**, v. 1, Gebrfider Borntraeger: Berlin, Germany, 1936.

LOUSADA JÚNIOR, J. E.; COSTA, J. M. C.; NEIVA, J. N. M.; RODRIGUEZ N. M. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 1, p. 70-76, 2006.

MACEDO JÚNIOR, G. L.; ZANINE, A. M.; BORGES, I.; PÉREZ, J. R. O. Qualidade da fibra para a dieta de ruminantes. **Ciência Animal**, v. 17, n. 1, p. 7-17, 2007.

MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, 2002.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriment of beef cattle**. 7 ed. Washington D.C.: National Academy Press, 242 p. 1996.

LEVY NETO, L. C.; PARDINI, L. C. **Compósitos estruturais: ciência e tecnologia**. Edgard Blücher, São Paulo, 313 p. 2006.

PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J. T. Suplementos múltiplos para recria e engorda de bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 2., 2001, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: UFV, p. 187-231., 2001.

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

RESENDE, F. D.; QUEIROZ, A. C.; OLIVEIRA, J. V.; PEREIRA, J. C.; MÂNCIO, A. B. Bovinos mestiços alimentados com diferentes proporções de volumoso: concentrado, digestibilidade aparente dos nutrientes, ganho de peso e conversão alimentar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 1, p. 261-269, 2001.

ROHLF, F. J.; FISHER, D. R. Tests for Hierarchical structure in Random Data Sets. **Systematic Zoology**, v. 17, n. 4, p. 407-412, 1968.

SANTOS, S. C. Substituição da silagem de cana-de-açúcar pela silagem dos restos culturais do abacaxizeiro na alimentação de ruminantes. **Dissertação** (Mestrado) Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 2008.

SANTOS, S. C.; FERNANDES, J. J. R.; CARVALHO, E. R.; GOUVEA, V. N.; LIMA, M. M.; DIAS, M. J. Utilização da silagem de restos culturais do abacaxizeiro em substituição à silagem de cana-de-açúcar na alimentação de ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, n. 4, p. 400-408, 2014.

SAS Institute Inc, SAS/STAT 9,2 **User's Guide**, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2010.

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

SENA NETO, A. R.; ARAUJO, M. A.; SOUZA, F. V.; MATTOSO, L. H.; MARCONCINI, J. M. Characterization and comparative evaluation of thermal, structural, chemical, mechanical and morphological properties of six pineapple leaf fiber varieties for use in composites. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 529-537, 2013.

SILVA, R. V.; AQUINO, E. M. F.: Curaua fiber: a new alternative to polymeric composites. **Journal of Reinforced Plastics and Composites**, v. 27, n. 1, p. 103-112, 2008.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, v. 11, n. 2, p. 33-40, 1962.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; COSTA JUNIOR, D. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; LEDO, C. A. S. Genetic variation of the

Ananas genus with ornamental potential. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, n. 7, p. 1357-1376, 2012.

SOUZA, E. H.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, F. V. D. Selection and use recommendation in hybrids of ornamental pineapple. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 409-416, 2014.

SPINACÉ, M. A. S.; JANEIRO, L. G.; BERNARDINO, F. C.; GROSSI, T. A.; DE PAOLI, M. A. Poliolefinas reforçadas com fibras vegetais curtas: sisal vs, Curauá. **Polímeros**, v. 21, n. 3, p. 168-174, 2011.

SUDWEEKS, E. M.; ELY, L. O.; MERTENS, D. R.; SISK, L. R. Assessing minimum amounts and form of roughages in ruminant diets: roughages value index system. **Journal of Animal Science**, v. 53, n. 5, p. 1406-1411, 1981.

TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4,0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 24, n. 8, p. 1596-1599, 2007.

VAN SOEST, P. J.; MERTENS, D. R. The use of neutral detergent fiber versus acid detergent fiber in balancing dairy rations. In: TECHNICAL SYMPOSIUM, 1984, Fresno. **Proceedings...** Fresno: Monsanto – Nutrition Chemicals Division, p.75- 92. 1984.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P.J.; WINE, R.H. Determination of lignina and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. **Journal of Association of Agricultural Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 780-85, 1968.

CAPÍTULO II

MICROPROPAGAÇÃO DE HÍBRIDOS DE ABACAXI DESENVOLVIDOS PARA EXTRAÇÃO DE FIBRAS ¹

¹Artigo a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Acta Scientiarum Agronomy.

MICROPROPAGAÇÃO DE HÍBRIDOS DE ABACAXI DESENVOLVIDOS PARA EXTRAÇÃO DE FIBRAS

RESUMO: Na última década em especial, o setor industrial tem investido esforços na busca por materiais alternativos de menor impacto ambiental e que, ao mesmo tempo, apresentem propriedades térmicas e mecânicas semelhantes aos polímeros atualmente utilizados. O curauá vem sendo utilizado na produção de artefatos para a indústria automobilística, tecidos e até papel. Entretanto, esse uso pela indústria só foi possível devido ao desenvolvimento de um protocolo de micropropagação que permitiu a produção de milhares de mudas, que por sua vez, possibilitaram a ampliação das áreas de plantio. Em vista disso, este trabalho teve como objetivo avaliar a resposta destes híbridos de *A. comosus* var. *erectifolius*, tanto na fase de estabelecimento quanto na etapa de multiplicação com a finalidade de produzir mudas de qualidade e em larga escala. Para o estudo, foram utilizadas gemas axilares retiradas do talo e da coroa de oito híbridos. As gemas foram reduzidas introduzidas em meio nutritivo MS suplementado com sacarose a 3,0% (m/v), BAP a 0,5 mg L⁻¹, ANA a 0,01 mg L⁻¹ e Phytigel® a 2,5 g L⁻¹. Aos 45 dias de cultivo foram avaliadas as seguintes variáveis: número de gemas oxidadas, contaminadas, e sobreviventes (gemas intumescidas) nas diferentes regiões e híbridos em avaliação. As gemas intumescidas e as plantas formadas oriundas do desenvolvimento de gemas foram transferidas para um meio de multiplicação contendo sais e vitaminas MS. Os dados foram submetidos a análises estatísticas no programa computacional SAS. Os híbridos FIB-NEG e FIB-ROX apresentaram os melhores resultados para a fase de estabelecimento. As melhores taxas de multiplicação foram obtidas a partir de gemas de coroa, com os valores mais elevados registrados para FIB-EST e FIB-CER.

Palavras-chave: *Ananas comosus* var. *erectifolius*; propagação *in vitro*; fibras lignocelulósicas.

MICROPROPAGATION OF PINEAPPLE HYBRIDS DEVELOPED FOR FIBER EXTRACTION

ABSTRACT: In the last decade in particular, the industry has made efforts in the search for alternative materials with lower environmental impact and at the same time, exhibit similar thermal and mechanical properties to the polymers currently used. Curauá has been used in the production of devices for the automotive industry, fabric and even paper. However, this use by the industry was only possible due to the development of a micropropagation protocol that enabled the production of thousands of seedlings, which in turn made possible the expansion of plantation areas. As a result, this study aimed to evaluate the response of these hybrid *A. comosus* var. *erectifolius*, both in the establishment phase and in the multiplication phase in order to produce quality seedlings on a large scale. To study axillary buds removed from the stem and the crown eight hybrids were used. The yolks were reduced introduced in nutrient medium supplemented with 3,0 % sucrose (w / v) of BAP 0,5 mg L⁻¹, ANA 0,01 mg L⁻¹ and 2,5 g Phytigel ® L⁻¹. After 45 days of cultivation the following variables were evaluated: number of oxidized gems, contaminated, and survivors (swollen buds) in different regions and hybrids under evaluation. The swollen buds formed and the plants from developing buds were transferred to a multiplication medium containing MS salts and vitamins. Data were subjected to statistical analysis in SAS computer program. FIB-ROX and FIB-NEG showed the best results for the establishment phase. The best multiplication rates were obtained from crown buds, with the highest values recorded for FIB-EST and FIB-CER.

Key words: *Ananas comosus* var. *erectifolius*; *in vitro* propagation; lignocellulosic fibers.

INTRODUÇÃO

A espécie *Ananas comosus* (L.) Merr. e suas respectivas variedades botânicas apresentam uso diversificado, que variam desde a utilização como plantas ornamentais (SOUZA et al., 2012a; 2014) ao uso de suas fibras como compósito polimérico (LEÃO et al., 2009; SENA NETO 2013; 2015; ASIM et al., 2015), além do uso alimentar (FAO, 2015). Na última década em especial, o setor industrial tem investido esforços na busca por materiais alternativos de menor impacto ambiental e que, ao mesmo tempo, apresentem propriedades térmicas e mecânicas semelhantes aos polímeros atualmente utilizados, associadas à possibilidade de biodegradação pós-consumo.

Em se tratando de fibras lignocelulósicas de múltipla e diversificada utilização, destaca-se a variedade botânica *A. comosus* var. *erectifolius*, conhecida popularmente como curauá, que possui uma fibra resistente, macia e de peso reduzido (LEÃO et al., 2009).

As fibras da espécie curauá são produzidas em larga escala por comunidades tradicionais amazônicas, principalmente no Estado do Pará. Podem substituir a fibra de vidro, pois apresentam resistência mecânica similar, são biodegradáveis, mais baratas e menos abrasivas aos equipamentos de processamento. Essa fibra vem sendo utilizada na produção de artefatos para a indústria automobilística, tecidos, papel e na construção civil (MARINELLI et al., 2008; ROCHA et al., 2013).

Entretanto, esse uso pela indústria só foi possível porque o desenvolvimento de um protocolo de micropropagação permitiu a produção de milhares de mudas que por sua vez possibilitaram a ampliação das áreas de plantio (PEREIRA et al., 2006; 2007). O desenvolvimento deste protocolo e o impacto sobre o cultivo do curauá na Região Amazônica resultaram em um prêmio FINEP 2003 para os pesquisadores envolvidos (LAMEIRA, 2009).

No plantio de modo tradicional do curauá, por meio vegetativo, uma planta adulta produz, em média, 40 mudas por ano. A utilização de técnicas de cultura de tecidos vegetais foi, portanto, uma alternativa valiosa para propagação dessa variedade visando atender à crescente demanda do mercado atual, tendo em vista que esse método permite a clonagem de até 85 mil mudas por ano a partir de uma planta adulta (PEREIRA et al., 2006), com qualidade genética.

A micropropagação, dentre as técnicas de cultura de tecidos é a de maior impacto para a agricultura e pode ser decisiva na adoção de uma nova variedade pelo mercado. É uma ótima alternativa para a seleção de genótipos superiores, oferecendo soluções para os programas de melhoramento vegetal. Sabe-se que o desenvolvimento de técnicas de cultura de tecidos vegetais tem sido uma das contribuições mais significativas para o avanço do processo de propagação de culturas vegetais (SOUZA et al., 2006).

Os híbridos selecionados pelo programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura, como fontes de fibras vegetais são resultados de hibridações com o curauá (BGA 739 e BGA 804 – *A. comosus* var. *erectifolius*) (SOUZA et al., 2014) e possuem fibras de excelente qualidade para indústria. Entretanto, pouco se conhece sobre o potencial propagativo destes materiais e como respondem à micropropagação.

Como a resposta genotípica às condições de cultivo *in vitro* são muito variadas, diferentes protocolos têm sido registrados para diferentes variedades de abacaxi (PEREIRA et al., 2006; PASQUAL et al., 2008; SOUZA et al., 2012a, SOUZA et al., 2012b; SOUZA et al., 2013; ALVES et al., 2014; SANTOS et al., 2015).

No Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Mandioca e Fruticultura vem sendo utilizado um protocolo básico de acordo com Souza et al. (2013) para a multiplicação de variedades de abacaxi.

Em vista disso, este trabalho teve como objetivo avaliar a resposta destes híbridos de *A. comosus* var. *erectifolius*, tanto na fase de estabelecimento quanto na etapa de multiplicação em relação ao protocolo adotado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, com a finalidade de produzir mudas de qualidade e em larga escala.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia. Foram utilizadas gemas axilares retiradas do talo e da coroa de oito híbridos: FIB-NEG e FIB-BOY (*A. comosus* var. *ananassoides* x *A. comosus* var. *erectifolius*), FIB-POT, FIB-MIN, FIB-EST, FIB-ROX e FIB-CER (*A. comosus* var. *erectifolius* x *A.*

comosus var. *bracteatus*) e FIB-SAI (*A. comosus* var. *bracteatus* x *A. comosus* var. *erectifolius*).

As plantas retiradas do campo tiveram suas folhas removidas para expor as gemas. Os talos e coroas foram lavados com água e detergente neutro. O talo foi dividido em três regiões: i) superior, ii) mediana e iii) inferior (Figura 1a). Foram consideradas da região inferior as gemas localizadas entre a primeira gema visível em contato com as raízes e o local onde aparecem os últimos meristemas radiculares; como gemas da região mediana, as que se localizavam desde a primeira gema visível após os últimos meristemas radiculares até o ponto de inflexão do caule do abacaxizeiro; e a partir daí até o ápice caulinar, como gemas da região superior. A coroa não foi dividida em regiões, devido ao comprimento de seu eixo, que torna difícil a divisão.

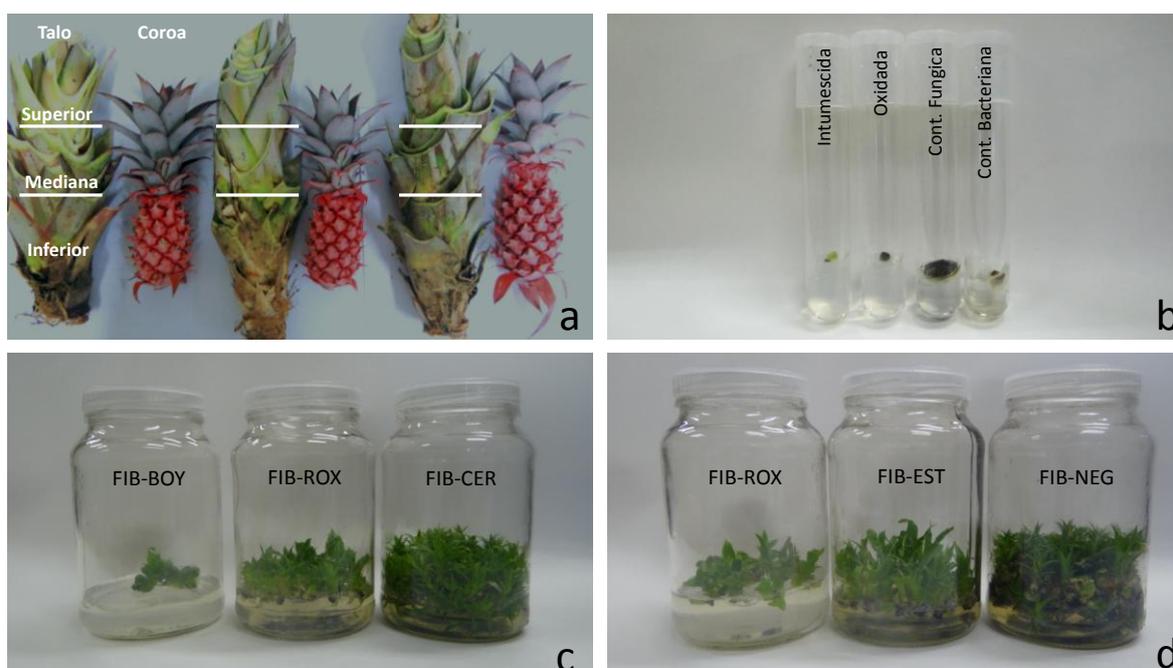


Figura 1. a) Material utilizado no estabelecimento *in vitro* das gemas provenientes da coroa e das diferentes regiões do talo no híbrido FIB-ROX. b) Gemas intumescidas, oxidadas e contaminadas por fungos e bactérias de FIB-POT na fase de estabelecimento *in vitro*. c) Multiplicação *in vitro* de gemas provenientes da coroa no quarto subcultivo nos diferentes híbridos avaliados. d) Multiplicação *in vitro* de gemas provenientes do talo no quarto subcultivo nos diferentes híbridos avaliados. Cruz das Almas, Bahia, 2015.

As gemas foram excisadas separadamente e transferidas para câmaras de fluxo laminar em frascos autoclavados. O processo de assepsia consistiu na

imersão das gemas em álcool 70% durante 5 minutos, para quebra da tensão superficial, seguida da imersão em solução aquosa de NaCl 2,5% com água destilada autoclavada, acrescida de três gotas de Tween-20® durante 25 minutos. Após esse procedimento, as mesmas foram lavadas por três vezes em água destilada autoclavada.

A etapa seguinte à desinfestação é a retirada do excesso de tecidos antes da introdução em tubos de ensaio (uma gema por tubo) com meio nutritivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com sacarose a 3,0% (m/v), BAP a 0,5 mg L⁻¹, ANA a 0,01 mg L⁻¹ e Phytigel® a 2,5 g L⁻¹ previamente autoclavado a 120 °C por 20 minutos. Os tubos de ensaio foram distribuídos ao acaso em sala de crescimento com condições de incubação de 27 ± 1 °C, permanecendo nestas condições de cultivo por um período de 45 dias.

Aos 45 dias de cultivo foram avaliadas as seguintes variáveis: número de gemas oxidadas, contaminadas, e sobreviventes (gemas intumescidas) nas diferentes regiões e híbridos em avaliação (Figura 1b).

As gemas intumescidas e as plantas formadas oriundas do desenvolvimento de gemas foram transferidas para um meio de multiplicação contendo sais e vitaminas MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com sacarose 3,0 % (m/v), BAP 0,5 mg L⁻¹, ANA 0,2 mg L⁻¹ e Phytigel ® 2,5 g L⁻¹, em frascos. Os frascos com as plantas foram mantidos nas mesmas condições do estabelecimento.

O procedimento de subcultivo compreendeu a limpeza das raízes, a retirada das folhas mais velhas e o seccionamento do caule, para promover a quebra da dominância apical, favorecendo a formação de brotos adventícios.

Para a fase de estabelecimento *in vitro* utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 8 x 2 (híbridos x fonte de explante – talo e coroa) com três repetições, sendo cada repetição composta de uma planta. Para as diferentes regiões do talo o delineamento foi inteiramente casualizado também com três repetições. Os dados foram processados pelo programa estatístico SAS Institute (SAS INSTITUTE, 2010) e as médias (valores absolutos) foram comparadas pelo teste Scott-Knott (híbridos) e Tukey (fontes de explantes) a 5 % de significância.

Calculou-se o número médio de brotos por subcultivo, cujos dados foram submetidos à análise de variância utilizando o programa estatístico SAS Institute

(SAS INSTITUTE, 2010). A taxa de multiplicação foi calculada, dividindo o número do subcultivo atual sobre o anterior. Para os dados do número médio de brotos foi também ajustado um modelo log-linear de Poisson, considerando o número de brotos de quatro híbridos (híbridos com dados completos) como variável independente (efeitos lineares) e os dados de multiplicação dos brotos como variável dependente. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado tendo como base quatro híbridos e quatro subcultivos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número total de gemas provenientes dos diferentes híbridos e regiões de onde as mesmas foram retiradas apresentaram diferenças significativas (Tabela 1). A divisão por região para identificar a origem dos explantes (coroa e três regiões do talo) é importante na identificação de que tipo de gema pode resultar em baixas taxas de contaminação, oxidação e que possuem um bom potencial propagativo (Figura 1a).

Tabela 1. Número de gemas totais, oxidadas, contaminadas e sobreviventes obtidas no estabelecimento *in vitro* de híbridos de abacaxizeiros voltados para fibra. Cruz das Almas, Bahia, 2015.

	Região da planta					Total de gemas
	Coroa	Talo	Talo Superior	Talo mediano	Talo inferior	
Número de Gemas						
FIB-NEG	24,3 aA	16,0 bB	5,3 b	4,7 b	6,0 a	40,3 a
FIB-SAI	15,7 bB	21,3 aA	7,0 b	6,7 a	7,6 a	37,0 a
FIB-MIN	25,0 aA	16,0 bB	5,7 b	5,7 b	4,6 b	41,0 a
FIB-BOY	20,7 aA	17,0 bA	7,0 b	4,0 b	6,0 a	37,7 a
FIB-POT	22,3 aA	17,0 bB	6,3 b	5,3 b	5,4 a	39,3 a
FIB-EST	16,3 bA	21,0 aA	7,7 b	7,3 a	6,0 a	37,3 a
FIB-CER	16,7 bA	15,7 bA	7,4 b	5,3 b	3,0 b	32,4 a
FIB-ROX	23,0 aA	23,7 aA	13,0 a	6,3 a	4,3 a	46,7 a
CV (%)	18,33	8,13	18,57	17,88	20,20	9,43
Oxidação % (número absoluto)						
FIB-NEG	25 (6,0) bA	11 (1,7) bB	19 (1,0) b	15 (0,7) a	-	19 (7,7) b
FIB-SAI	46 (7,3) bA	17 (3,7) bB	24 (1,7) b	10 (0,7) a	17 (1,3) a	30 (11,0) b
FIB-MIN	41 (10,3) aA	12 (2,0) bB	12 (0,7) b	5 (0,3) a	22 (1,0) a	30 (12,3) b
FIB-BOY	43 (9,0) bA	12 (2,0) bB	18 (1,3) b	7 (0,3) a	5 (0,3) a	29 (11,0) b
FIB-POT	76 (17,0) aA	29 (5,0) bB	52 (3,3) a	19 (1,0) a	13 (0,7) a	56 (22,0) a
FIB-EST	88 (14,3) aA	41 (8,7) aB	61 (4,7) a	23 (1,7) a	38 (2,3) a	62 (23,0) a
FIB-CER	70 (11,7) aA	11 (1,7) bB	-	32 (1,7) a	-	41 (13,3) b
FIB-ROX	14 (3,3) cA	16 (3,7) bA	28 (3,7) a	-	-	15 (7,0) b
CV (%)	42,01	21,76	21,40	61,02	52,49	34,36
Contaminação % (número absoluto)						
FIB-NEG	30 (7,3) aA	54 (8,7) cA	51 (2,7) b	28 (1,3) b	78 (4,7) a	40 (16,0) a
FIB-SAI	21 (3,3) bB	75(16,0) aA	61 (4,3) a	80 (5,3) a	83 (6,3) a	52 (19,3) a
FIB-MIN	52 (13,0) aA	70(11,3) bA	47 (2,7) b	88 (5,0) a	80 (3,7) a	59 (24,3) a
FIB-BOY	53 (11,0) aA	88(15,0) aA	81 (5,7) a	93 (3,7) a	95 (5,7) a	69 (26,0) a
FIB-POT	19 (4,3) bB	63(10,7) bA	48 (3,0) b	70 (3,7) a	94 (4,0) a	38 (15,0) a
FIB-EST	4 (0,7) bB	48(10,0) bA	26 (2,0) b	59 (4,3) a	62 (3,7) a	29 (10,7) a

FIB-CER	24 (4,0) bB	85 (13,3) aA	98 (7,3) a	57 (3,0) a	100 (3,0) a	53 (17,3) a
FIB-ROX	39 (9,0) aB	58 (13,7) aA	38 (5,0) a	68 (4,3) a	100 (4,3) a	49 (22,7) a
CV (%)	17,92	36,22	43,87	50,52	50,63	31,14
Sobrevivência % (número absoluto)						
FIB-NEG	45 (11,0) aA	36 (5,7) aB	30 (1,7) b	57 (2,7) a	22 (1,3) a	41 (16,7) a
FIB-SAI	33 (5,0) bA	8 (1,7) bA	15 (1,0) b	10 (0,6) a	-	18 (6,7) b
FIB-MIN	7 (1,7) cA	17 (2,7) bA	41 (2,3) b	7 (0,3) a	-	11 (4,3) b
FIB-BOY	4 (0,7) c	-	-	-	-	2 (0,7) b
FIB-POT	5 (1,0) cA	8 (1,3) bA	-	11 (0,7) a	13 (0,7) a	6 (2,3) b
FIB-EST	8 (1,3) cA	11 (2,3) bA	13 (1,0) b	18 (1,3) a	-	10 (3,7) b
FIB-CER	6 (1,0) cA	4 (0,7) bA	-	11 (0,7) a	-	6 (1,7) b
FIB-ROX	47 (10,7) aA	26 (6,3) aB	34 (4,3) a	32 (2,0) a	-	36 (17,0) a
CV (%)	33,12	15,42	9,82	15,79	27,80	44,04

Porcentagem e número absoluto entre parêntese, das variáveis gemas oxidadas, contaminadas e sobreviventes.

*Médias dos valores absolutos seguidas por letras minúsculas na coluna e maiúscula na linha dentro de um mesmo fator não diferem pelo teste Scott-Knott e Tukey a 5% de significância, respectivamente.

O maior número de gemas (explantes) foi registrado nos híbridos FIB-NEG, FIB-MIN, FIB-BOY, FIB-ROX e FIB-POT provenientes da coroa com média variando de 20,7 a 25,0, enquanto que, para as gemas provenientes do talo, os híbridos FIB-SAI, FIB-EST e FIB-ROX apresentaram um maior número. O híbrido FIB-ROX não apresentou diferença significativa entre as fontes de explantes. Comparando-se o número de gemas totais das duas fontes de explante (coroa e talo) foi possível observar que as coroas produziram mais gemas do que o talo para a maioria dos híbridos. Entre as regiões do talo foi possível observar que a região com mais gemas é a superior para quase todos os híbridos com exceção de FIB-NEG e FIB-SAI.

A contabilização do número total de gemas de uma planta pode ser um indicativo de seu potencial propagativo, ainda que vários fatores venham afetar o desenvolvimento das mesmas ao longo de seu cultivo, tais como contaminação, oxidação, etc. Entre os híbridos estudados, considerando o total de gemas, não houve diferença estatística entre eles, como pode ser visto na Tabela 1.

Ao se avaliar as taxas de oxidação foi possível constatar que as gemas de coroa oxidam mais que as do talo para todos os híbridos estudados. Apenas o FIB-ROX apresentou oxidação igual entre coroa e talo. Considerando-se os resultados dentro de cada origem de explante, os híbridos FIB-MIN (41%), FIB-POT (76%), FIB-EST (88%) e FIB-CER (70%) apresentaram elevadas taxas de oxidação para as gemas da coroa deixando evidente a susceptibilidade destes materiais aos processos de oxidação.

Essa oxidação em termos de porcentagem representa uma perda significativa para os materiais, sobretudo para o híbrido FIB-EST com aproximadamente 88% de gemas oxidadas. Os resultados das taxas de oxidação na fase de estabelecimento demonstram que as gemas da coroa são mais susceptíveis à oxidação do que as gemas do talo, o que pode ser devido, provavelmente, ao tamanho das gemas e a juvenilidade dos tecidos. Por outro lado, por serem gemas de tamanho muito reduzido, a possibilidade de causar injúrias nos tecidos durante o processo de excisão é maior, causando maior liberação de polifenóis no local da injúria.

O processo de oxidação sobrevém devido à liberação de compostos fenólicos, pelo tecido injuriado, que contém alta concentração desses

componentes. Dentre as consequências da liberação destes compostos esta a alteração na composição do meio de cultivo e da absorção de metabólitos pelos explantes (ANDRADE et al., 2000). Esses compostos fenólicos são oxidados pelas enzimas polifenases, produzindo substâncias tóxicas, inibindo o crescimento dos explantes e consequentemente podendo causar sua morte (SATO et al., 2001).

Em relação às taxas de contaminação, os resultados mostram que as gemas do talo contaminam mais que as de coroa, de uma forma geral, ainda que FIB-NEG, FIB-MIN e FIB-BOY tenham apresentado taxas iguais entre os dois tipos de gema.

Para os explantes provenientes do talo foi observado que os híbridos FIB-BOY (88%), FIB-CER (85%) FIB-SAI (75%), e FIB-ROX (58%) obtiveram as maiores porcentagens de contaminação. Para 50% dos híbridos estudados as gemas da parte inferior contaminaram mais, quando comparadas com a região superior do talo.

Em condições de campo, o talo encontra-se próximo ao solo, mantendo contato direto com microrganismos que podem ser de difícil remoção e/ ou resistentes ao processo de desinfestação em laboratório.

O controle da contaminação no estabelecimento *in vitro* depende da eficiência do protocolo utilizado. No caso deste trabalho, como já comentado, foi usado um protocolo básico para os diferentes híbridos de abacaxi. Os resultados deixam evidente a necessidade de se aprimorar o procedimento de desinfestação para estes híbridos.

Com relação às taxas de sobrevivência, os resultados mostram uma perda considerável em razão da oxidação e das contaminações ocorridas, tanto para gemas de coroa, quanto para as gemas de talo.

Na região da coroa os maiores valores de sobrevivência foram observados para os híbridos FIB-NEG (45%) e FIB-ROX (47%), que diferiram significativamente dos demais. Esses mesmos híbridos apresentaram os maiores números de gemas sobreviventes provenientes do talo e no total de gemas sobreviventes, independente da origem do explante. Considerando as três regiões do talo, a inferior teve uma porcentagem de sobrevivência muito reduzida para todos os híbridos estabelecidos e cujos resultados são compatíveis com os níveis

de contaminação registrados. A maior perda nesta região ocorre normalmente por contaminações devido à proximidade desta parte da planta com o solo, aliada a um tecido velho e endurecido cuja remoção de microrganismos é mais difícil.

As taxas de sobrevivência variaram muito entre os híbridos e com a localização da gema, mas é possível considerar que os híbridos FIB-NEG e FIB-ROX apresentaram os melhores resultados, alcançando no final, diferença significativa para o número total de gemas sobreviventes entre todos os híbridos. FIB-BOY apresentou a menor porcentagem de sobrevivência, devido, principalmente às elevadas contaminações, com destaque às de origem fúngica.

O conhecimento acerca dos fatores oxidação, contaminação e sobrevivência relacionam-se com necessidade de serem desenvolvidos protocolos específicos para cada variedade, visando assim conhecer o potencial exibido pelo material vegetal.

Souza et al. (2012b) relatam que a resposta *in vitro* de uma planta depende de diversos fatores como a espécie, genótipo, explante inicial, e ainda consideram que a realização de ajustes no meio de cultura é um dos fatores mais relevantes para obter altas taxas de multiplicação e plantas saudáveis.

Pereira et al. (2006) destacam a importância de selecionar materiais com bom estado fisiológico e tamanho homogêneo, para se obter melhores resultados na proliferação das brotações. Esses autores realizaram estudo com o *A. comosus* var. *erectifolius*, o qual é parental dos híbridos presentes neste trabalho e mantiveram as gemas axilares de curauá durante 30 dias até a fase de multiplicação, chegando a conclusão que na fase de multiplicação 25 mL de meio de cultura é a quantidade ideal para disponibilizar mais nutrientes e diminuir também a competição entre as plantas.

Fase de multiplicação

Os valores referentes à multiplicação tanto para coroa, quanto para gemas de talo estão apresentados na Tabela 2. Vale destacar que nesta etapa não foi contabilizado as diferentes secções do talo devido os mesmos não apresentarem diferenças significativas.

Tabela 2. Multiplicação *in vitro* de híbridos de abacaxizeiros voltados para fibra. Cruz das Almas, Bahia, 2015.

Híbridos	Gemas da Coroa				Gemas do Talo			
	1º S	2º S	3º S	4º S	1º S	2º S	3º S	4º S
Número médio de brotos								
FIB-NEG	1,39	1,79	4,93	14,68	2,00	5,00	13,57	41,79
FIB-SAI	2,00	2,67	7,83	26,67	-	-	-	-
FIB-MIN	1,50	3,00	17,00	47,50	1,00	1,50	3,00	14,50
FIB-BOY	1,00	1,00	1,00	2,00	-	-	-	-
FIB-POT	1,00	1,00	-	-	1,00	1,75	-	-
FIB-EST	2,00	2,50	8,75	51,00	1,60	3,40	7,80	27,60
FIB-CER	2,00	5,00	13,00	73,00	-	-	-	-
FIB-ROX	1,80	2,15	6,50	14,67	1,71	2,00	2,86	6,71
Taxa de multiplicação								
FIB-NEG	1,39	1,21	2,99	3,52	2,00	2,50	2,77	3,73
FIB-SAI	2,00	1,33	3,04	3,45	-	-	-	-
FIB-MIN	1,50	1,75	7,80	3,16	1,00	1,50	2,00	4,38
FIB-BOY	1,00	1,00	1,00	2,00	-	-	-	-
FIB-POT	1,00	1,00	-	-	1,00	1,75	-	-
FIB-EST	2,00	1,25	3,08	5,96	1,60	2,00	1,92	3,04
FIB-CER	2,00	2,50	2,60	5,62	-	-	-	-
FIB-ROX	1,80	1,25	2,75	2,01	2,00	1,00	1,50	2,39

A resposta dos materiais ao protocolo utilizado rotineiramente no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Mandioca e Fruticultura variou entre os híbridos e entre o tipo de explante de partida. Os maiores números de brotos foram obtidos a partir de gemas da coroa, com os valores mais elevados registrados para FIB-EST, FIB-CER e FIB-MIN no quarto subcultivo. No entanto não foi possível chegar ao terceiro subcultivo com FIB-POT, principalmente pelas perdas devido a oxidação.

Tanto em gemas de coroa, quanto as gemas do talo foi possível observar uma diferença marcante entre os híbridos no que se refere à sua multiplicação, deixando evidente que a maior influência na resposta ao protocolo usado foi genotípica.

O efeito do genótipo tem sido relatado em vários trabalhos de micropropagação (SOUZA et al., 2012b; ALVES et al., 2014) e é o fator que explica a necessidade de constantes ajustes de protocolos. Diversos estudos para promover o aumento na proliferação dos brotos em diferentes cultivares e utilizando meio de cultura MS com diferentes concentrações e tipos de reguladores de crescimento, são descritos na literatura (ESCALONA et al., 1999; DAL VESCO et al., 2001; MACÊDO et al., 2003; CARVALHO et al., 2005; SOUZA et al., 2013; ALVES et al., 2014).

Para abacaxi existem diferentes protocolos publicados, com base também no uso do meio básico MS e variações no balanço entre os reguladores de crescimento utilizados, principalmente para as variedades comerciais de uso alimentar (PIZA et al., 2001; MACÊDO et al., 2003; SILVA et al., 2007; MORAES et al., 2010). Trabalhos voltados para a multiplicação *in vitro* para abacaxizeiros ornamentais também são encontrados (BORGES et al., 2003; CARVALHO et al., 2005; 2009; PASQUAL et al., 2008, SOUZA et al., 2013; ALVES et al., 2014).

A maioria das alterações observadas nos protocolos referem-se a mudanças no balanço hormonal, sendo o BAP a citocinina mais usada para abacaxi. No estudo realizado por Piza et al. (2001) ao propagar a cultivar Smooth Cayenne observaram que o uso de BAP na concentração 2 mg L^{-1} na fase de multiplicação foi de suma importância para a multiplicação dos brotos, com uma média de oito por explante.

Macêdo et al. (2003), ao estudarem a cultivar Pérola obtiveram uma taxa de crescimento e de multiplicação *in vitro* equilibradas, isto é, uma quantidade de brotos suficientes (2,0 a 5,0 brotos aos 90 dias de cultivo) e ao mesmo tempo de fácil individualização devido ao desenvolvimento das mudas nas concentrações intermediárias de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP + $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA e $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP + $0,12 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA em meio de cultura MS.

Moraes et al. (2010) estudando a cultivar de abacaxi EMEPA obtiveram as maiores taxas de multiplicação dos brotos em meio de cultura MS suplementado com $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP + $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA, durante três subcultivos sucessivos, obtendo uma média de até 10,4 brotos por explantes. No presente trabalho, ao utilizar $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA foi alcançada taxa de multiplicação de 7,8 brotos por explantes no terceiro subcultivo para o híbrido FIB-MIN.

Ao estudar a multiplicação de abacaxizeiros ornamentais em diferentes concentrações de BAP e períodos de avaliação do desenvolvimento *in vitro* Alves et al. (2014) verificaram que as variedades *A. comosus* var. *bracteatus* e *A. comosus* var. *erectifolius* apresentaram resultados diferentes quanto à capacidade de formação de brotos e os maiores resultados para esta característica foram observados na concentração de 3 mg L⁻¹ de BAP. Nessas condições, o *A. comosus* var. *bracteatus* foi mais eficiente, apresentando uma média de 12,30 brotos por explante, enquanto que o *A. comosus* var. *erectifolius* produziu apenas 4,60 brotos por explantes.

Outros estudos buscaram novos sistemas de cultivo *in vitro* para melhorar as taxas de multiplicação, principalmente a partir do uso de biorreatores. Silva et al. (2007) ao micropropagar abacaxizeiro da cultivar Imperial observaram que o número de brotos é influenciado diretamente pelos métodos de cultivo e verificaram, no período de 45 dias, que o método de imersão temporária a cada 2, 4 e 8 horas e a imersão contínua a cada duas horas apresentaram os melhores resultados de taxa de multiplicação, com cerca de 19 brotações por explante, enquanto o cultivo em meio sólido com 6 g L⁻¹ apresentou um menor desempenho com 5,91 brotações por explante.

O sistema de cultivo utilizado neste trabalho foi em meio sólido e os resultados, apesar das diferenças entre as variedades, foram considerados igualmente baixos, se comparados a um sistema com biorreatores.

Um dos aspectos pouco registrados em trabalhos de micropropagação se refere aos procedimentos estatísticos utilizados e sobre sua adequação a um modelo biológico de laboratório.

Arnold et al. (1992) citam que quando os dados não seguem uma distribuição normal, neste caso, dados concernentes à taxas de multiplicação, não há aplicabilidade do uso da análise estatística e análise de variância. Para esse tipo de avaliação torna-se necessário uma análise adequada dos dados e aplicabilidade de modelos estatísticos que expliquem o comportamento exibido pelo material vegetal nas condições de propagação *in vitro*. Para tanto, Mendes et al. (1999) sugerem que modelos de regressão de Poisson fornecem um padrão para a análise dos dados de contagem.

No presente estudo os resultados obtidos na fase de multiplicação foram submetidos à análise de regressão de Poisson. Para essa análise foram selecionados quatro híbridos (FIB-NEG, FIB-MIN, FIB-EST e FIB-ROX) que apresentaram bom potencial propagativo para as gemas provenientes da coroa e do talo.

Nas figuras 2 e 3 encontram-se os gráficos obtidos da análise de regressão de Poisson com as curvas correspondentes aos diferentes híbridos e os quatro subcultivos, confirmando assim, a diferença entre os híbridos estudados e expressando o aumento no número de brotos ao longo do tempo.

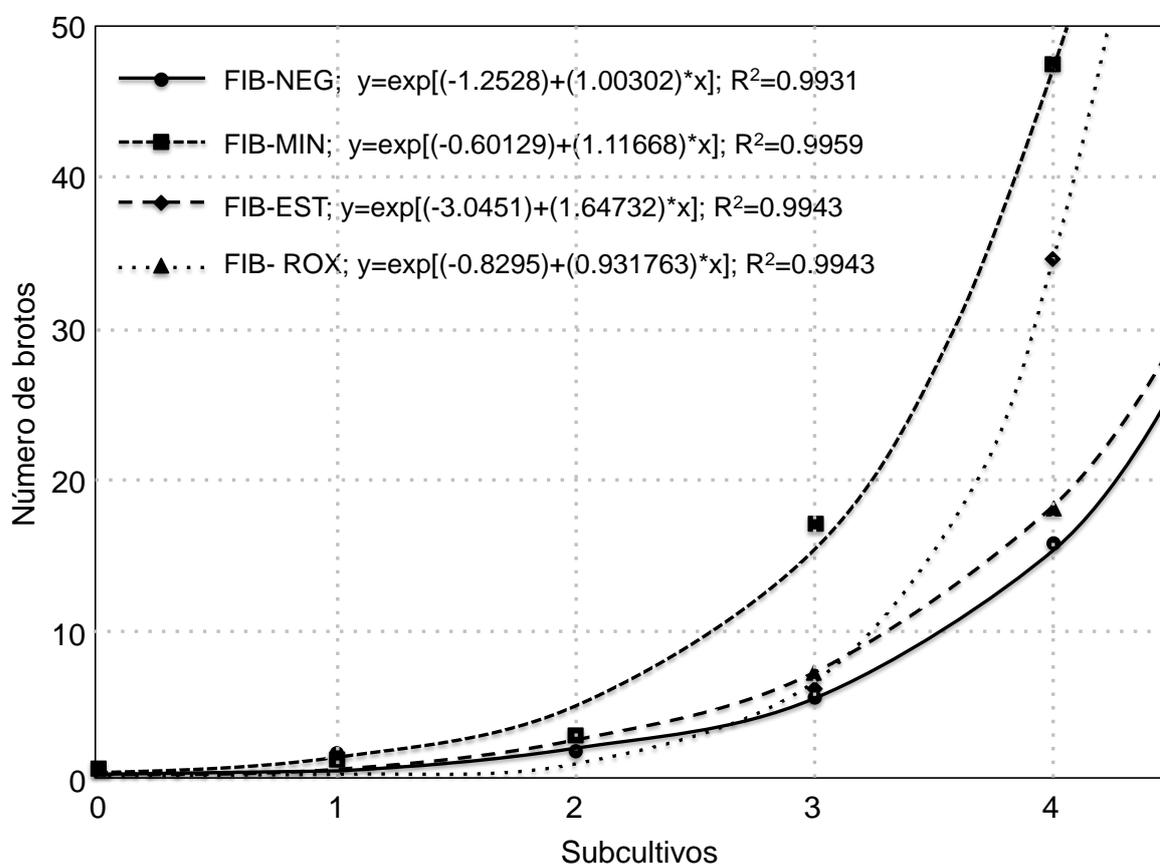


Figura 2. Número médio de brotos provenientes de gemas da coroa de híbridos de abacaxizeiros em função de quatro períodos de subcultivo. Cruz das Almas, Bahia, 2015.

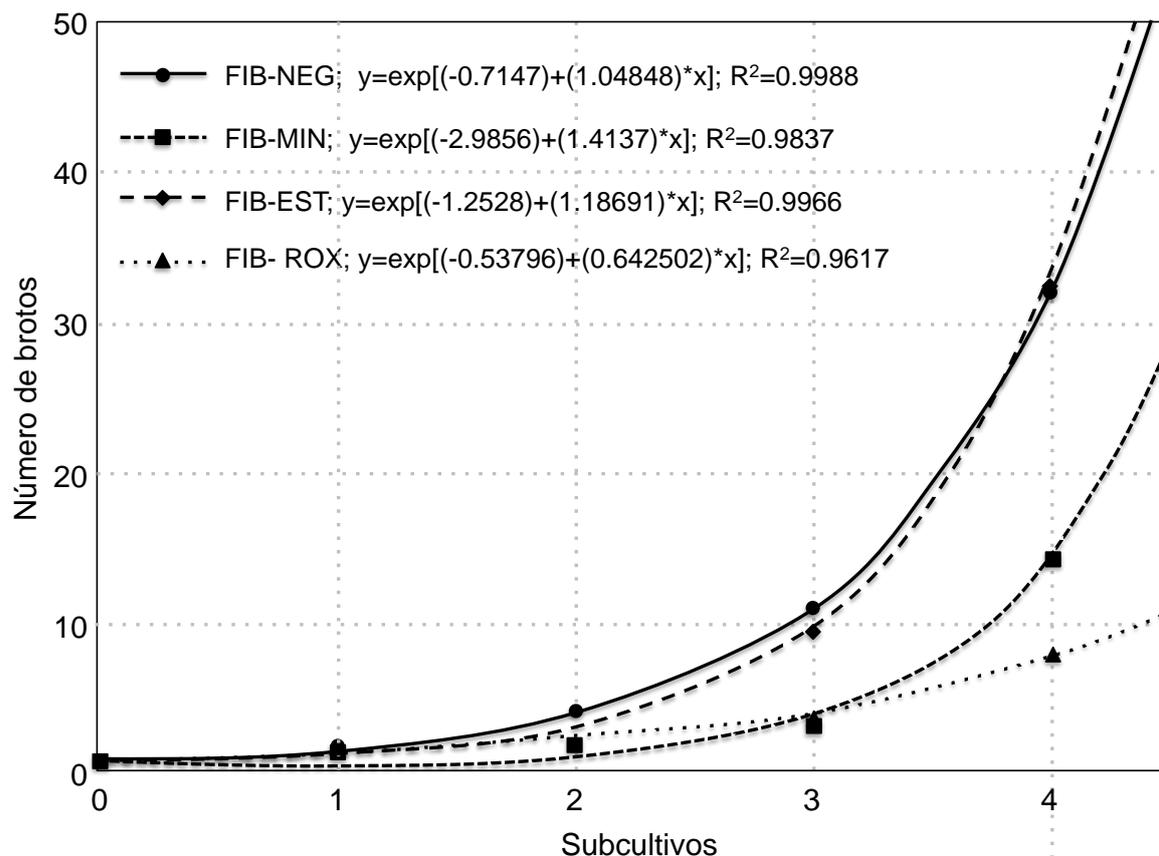


Figura 3. Número médio de brotos provenientes de gemas do talo de híbridos de abacaxizeiros em função de quatro períodos de subcultivo. Cruz das Almas, Bahia, 2015.

O modelo exponencial foi o mais adequado para apresentar a taxa média de multiplicação dos híbridos para as duas fontes de explantes (coroa e talo). As taxas de multiplicação, referentes aos brotos provenientes da coroa, para os diferentes híbridos foram registradas com os maiores valores para o híbrido FIB-MIN, seguido de FIB-EST, FIB-ROX e por último o FIB-NEG. Com relação às taxas de multiplicação dos brotos provenientes do talo os maiores valores foram observados para os híbridos FIB-EST e FIB-NEG, seguido do FIB-MIN, e por fim o FIB-ROX. Foram observados picos de produção diferentes para cada híbrido.

O modelo exponencial sugere um crescimento constante para as taxas de multiplicação até o quarto subcultivo. Vários trabalhos já têm demonstrado que o comportamento da multiplicação de plantas *in vitro* tende a seguir um modelo quadrático, com a queda nas taxas de multiplicação após um pico de produção e um determinado número de subcultivos (MENDES et al, 1999; HAMAD; TAHA,

2008). Entretanto, esses picos de produção vão variar entre espécies e dentro da mesma espécie, entre genótipos.

No presente estudo, até o quarto subcultivo não foi possível verificar o início da diminuição das taxas de multiplicação, o que caracterizaria uma função quadrática, mais adaptada a modelos biológicos. Esse comportamento provavelmente aconteceria caso fossem realizados outros subcultivos sucessivos.

Mendes et al. (1999) identificou em seu trabalho com micropropagação de bananeiras que com a aplicação da derivada de cada modelo ajustado à regressão foi possível identificar a transição a partir de um ponto positivo até uma aceleração negativa em função do tempo, o momento em que a taxa de multiplicação diminuiu. Esses mesmos autores relatam que embora tenha sido observado que o número de rebentos continuou a aumentar, a velocidade de multiplicação diminuiu logo após alcançar o pico.

Resultado similar foi observado por Silva et al. (2016) em um estudo realizado com 66 variedades silvestres de abacaxi pertencentes a diferentes variedades botânicas. Para a maioria dos materiais estudados o pico de produção deu-se no quarto subcultivo e o início da queda no quinto subcultivo.

As causas dessa redução podem ser variadas e precisam ser melhor estudadas, mas o intervalo determinado para a realização do subcultivo pode ter forte influência no resultado. Provavelmente existe uma correlação deste efeito com o efeito do genótipo, sempre bastante acentuado em cultura de tecidos.

Hamad e Taha (2008) sugerem que o intervalo entre subcultivos, normalmente estipulado pelos pesquisadores entre 30 e 45 dias, para plantas *in vitro* de abacaxi, pode responder parcialmente por essa queda, já que os cortes a que as plantas são submetidas ao serem transferidas podem afetar tecidos ou regiões meristemáticas, influenciando na propagação. Assim, intervalos mais longos podem ser benéficos para aumentar as taxas de multiplicação. De qualquer forma, a dependência genotípica deverá sempre ser considerada.

Os resultados deste trabalho deixam evidente a necessidade de fazer ajustes no protocolo para a maioria dos híbridos estudados, mas também deixam claro que é possível a obtenção de mudas por micropropagação. De forma geral, todos apresentaram baixas taxas de multiplicação, se comparados a outras variedades, como já mencionado anteriormente.

O uso de estratégias para reduzir a oxidação, assim como melhorias no processo de desinfestação podem ajudar a melhorar os resultados obtidos neste estudo.

CONCLUSÕES

FIB-NEG e FIB-ROX apresentaram os melhores resultados para a fase de estabelecimento inicial alcançando maior porcentagem de sobrevivência;

As melhores taxas de multiplicação foram obtidas a partir de gemas de coroa, com os valores mais elevados registrados para FIB-EST e FIB-CER no quarto subcultivo.

REFERÊNCIAS

- ALVES, K. A.; LONDE, L. N.; MELO, E. F.; RODRIGUES, G. B. Multiplicação de abacaxizeiros ornamentais em diferentes concentrações de BAP e períodos de avaliação do desenvolvimento *in vitro*. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 188-198, 2014.
- ANDRADE, M. W.; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S.; MELO, P. R. A. Micropropagation of urunday (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). **Ciência e Agrotecnologia** v. 24, n.1, p. 174-180, 2000.
- ARNOLD, N. P.; BINNS, M. R.; BARTHAKUR, N. N.; CLOUTIER, D. C. A study of the effect of growth regulators and time of plantlet harved on the *in vitro* multiplication rate of hardy and hybrid tea roses. **Jornal of Horticultural Science**. v. 67, n. 6, p. 727-735, 1992.
- ASIM, M.; ABDAN, K.; JAWAID, M.; NASIR, M.; DASHTIZADEH, Z.; ISHAK, M. R.; HOQUE, M. E. A review on pineapple leaves fibre and its composites. **International Journal of Polymer Science**, Article ID 950567, 2015.
- BORGES, N. S. S.; CORREIA, D.; ROSSETTI, A. G. Influência do meio bifásico na multiplicação de gemas e no alongamento de brotos *in vitro* de *Ananas lucidus* Miller. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 9, n. 1, p. 37-44, 2003.
- CARVALHO, A. C. P. P.; BRAGA, E. P.; SANTOS, M. R. A.; MORAIS, J. P. S. Micropropagação de abacaxi ornamental (*Ananas comosus* var. *bracteatus*) por meio da indução ao estiolamento e regeneração de plântulas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 11, n. 2, p. 121-126, 2005.
- CARVALHO, A. C. P. P.; PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. M. G.; MORAIS, J. P. S. Multiplicação *in vitro* de abacaxi ornamental por estiolamento e regeneração de brotações. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v. 27, n.1, p. 103-108, 2009.
- DAL VESCO, L. L.; PINTO, A. A.; ZAFFARI, G. R.; NODARIA, R. O.; REISA, MIGUEL PEDRO GUERRA, M. S. Improving pineapple micropropagation protocol

through explant size and medium composition manipulation. **Fruits**, v. 56, n. 3, p. 143-154, 2001.

ESCALONA, M.; LORENZO, J. C.; GONZÁLEZ, B.; DAQUINTA, M.; GONZÁLEZ, J. L.; DESJARDINS, Y.; BORROTO, C. G. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. **Plant Cell Reports**, v. 18, n. 9, p. 743-748, 1999.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) Database, United States: Database.United States: **FAO/FAOSTAT**, Disponível em: <[http://faostat,fao.org](http://faostat.fao.org)>, Acesso em: 12 Jun 2015.

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

LAMEIRA, O. A. Aspectos técnicos e sócio-econômicos da aplicação da micropropagação na produção de fibras: o caso do curauá. **Anais... XVII CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS IV CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS**. 2009.

LEÃO, A. L.; MACHADO, I. S.; SOUZA, S. F.; SORIANO, L. Production of curauá (*Ananas erectifolius* L.B. Smith) fibers for industrial applications: characterization and micropropagation. **Acta Horticulturae**, v. 822, p. 227-238, ISHS 2009.

MACÊDO, C. E. C.; SILVA, M. G.; NÓBREGA, F. S.; MARTINS, C. P.; BARROSO, P. A. V.; ALLOUFA, M. A. I. Concentrações de ANA e BAP na micropropagação de abacaxizeiro I. Merrill (*Ananas comosus*) e no cultivo hidropônico das plântulas obtidas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 501-504, 2003.

MARINELLI, A. L.; MONTEIRO, M. R.; AMBRÓSIO, J. D.; BRANCIFORTI, M. C.; KOBAYASHI, M.; NOBRE, A. D. Desenvolvimento de compósitos poliméricos com

fibras vegetais naturais da biodiversidade: uma contribuição para a sustentabilidade amazônica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 18, n. 2, p. 92-99, 2008.

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

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

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

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

PEREIRA, F. D.; PINTO, J. E. B. P.; RODRIGUES, H. C. A.; ROSADO, L. D. S.; BEIJO, L. A.; LAMEIRA, O. A. Proliferação *in vitro* de brotos de curauá utilizando diferentes volumes de meio de cultura. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 2, n. 2, p. 102-106, 2006.

PEREIRA, F. D.; PINTO, J. E. B. P.; RODRIGUES, H. C. A.; ROSADO, L. D. S.; BEIJO, L. A.; LAMEIRA, O. Caracteres anatômicos de fibras foliares de brotações de curauá propagadas *in vitro*. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 29, n. 1, p. 23-28, 2007.

PIZA, I. M. T.; LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G. Reguladores vegetais na micropropagação do abacaxizeiro. **Revista Ceres**, v. 48. n. 280, p. 681-690, 2001.

ROCHA, J. S.; PONTES, C. L. F.; CÂMARA, V. M. O; RAMOS, K. B. L.; BESSA, T. M. F. Aproveitamento de fibras vegetais para a construção sustentável. **Inclusão Social**, v. 6 n. 2, p.42-47, 2013.

SAS Institute Inc. **SAS/STAT**: user's guide, v.9,2. Cary, NC, 2010.

SATO, A.Y.; DIAS, H.C.T.; ANDRADE, L.A.; SOUZA, V. C. Micropropagação de *Celtis* sp.: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, v. 7, n. 2, p. 117-123, 2001.

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

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

SENA NETO, A. R.; ARAUJO, M. A.; SOUZA, F. V.; MATTOSO, L. H.; MARCONCINI, J. M. Characterization and comparative evaluation of termal, structural, chemical, mechanical and morphological properties of six pineapple leaf fiber varieties for use in composites. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 529-537, 2013.

SILVA, A. B.; PASQUAL, M.; TEIXEIRA, J. B.; ARAÚJO, A. G. Métodos de micropropagação de abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 9, p. 1257-1260, 2007.

SILVA, R. L.; FERREIRA, C. F.; LEDO, C. A. S.; SILVA, P. H.; SOUZA, E. H.; COSTA, M. A. P. C.; SOUZA, F. V. D. Viability and genetic stability of pineapple germplasm after ten years of *in vitro* conservation. **Plant Cell Culture and Micropropagation** (Prelo), 2016.

SOUZA, E. H.; COSTA, M. A. P. C.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, F. V. D. Selection and use recommendation in hybrids of ornamental pineapple. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 409-416, 2014.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; COSTA JUNIOR, D. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; LEDO, C. A. S. Genetic variation of the *Ananas* genus with ornamental potential. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, n. 7, p. 1357-1376, 2012a.

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

SOUZA, F. V. D.; JUNGHANS, T. S.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; COSTA, M. A. P. C. Micropropagação. In: SOUZA, A. S.; JUNGHANS, T. S. **Introdução a micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, pp. 38-50. 2006.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; JUNGHANS, T. G.; SILVA, M. J. Micropropagação do Abacaxizeiro e Outras Bromeliáceas. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. (Org.). **Aspectos Práticos da Micropropagação de Plantas**. 2ed. Brasília: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, v. 1, p. 189-218, 2013.

CAPÍTULO III

DIVERSIDADE GENÉTICA E ASSOCIAÇÃO DE MARCADORES ISSR À QUALIDADE DE FIBRA DE ABACAXI PARA USO NA INDÚSTRIA¹

¹Artigo a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico Genetic Molecular Research

DIVERSIDADE GENÉTICA E ASSOCIAÇÃO DE MARCADORES ISSR À QUALIDADE DE FIBRA DE ABACAXI PARA USO NA INDÚSTRIA

RESUMO: Atualmente a busca por produtos biodegradáveis como as fibras naturais, é uma estratégia que atrai o interesse de várias indústrias. Essas fibras surgem como uma alternativa de baixo custo e com um apelo ambiental superior a outros materiais usados. Dessa forma, os objetivos do trabalho foram avaliar a variabilidade genética de 13 genótipos de abacaxizeiro para uso de suas fibras como reforço mecânico em compósitos aplicados à indústria e analisar possível associação de 217 marcas provenientes de 17 marcadores ISSR com características de qualidade de fibra por meio de testes não paramétricos (correlação de Spearman e Kruskal-Wallis). O estudo de diversidade genética, tanto por meio dos marcadores, quanto em relação às características quantitativas para qualidade de fibra, revelou existência de variabilidade e a possibilidade de se explorar materiais com características próximas às do curauá; material cujas fibras, atualmente, são as mais utilizadas na indústria. Onze bandas foram selecionadas com base em suas altas correlações (0,63434* a 0,76169**) com todas as quatro variáveis para qualidade de fibra, o que possibilitou a criação de um conjunto de marcas para possível uso na seleção precoce de genótipos promissores mediante posterior sequenciamento e validação. A possibilidade do uso na seleção assistida para qualidade de fibra em abacaxizeiro trará grandes retornos, não somente para a indústria, cujo mercado é crescente, mas também para assegurar a sustentabilidade desse setor produtivo. Este é o primeiro relato do uso de métodos não paramétricos para a qualidade da fibra nesta cultura.

Palavras-chave: *Ananas comosus* (L.) Merr., diversidade genética, teste não paramétrico, Spearman; Kruskal-Wallis; marcadores de DNA.

GENETIC DIVERSITY AND ISSR MARKERS ASSOCIATED TO QUALITY OF PINEAPPLE FIBERS FOR USE IN THE INDUSTRY

ABSTRACT: Currently the search for biodegradable products such as natural fibers is a strategy which attracts the interest of various industries. These fibers are an inexpensive alternative with an environmental appeal in comparison to other materials used. Therefore, the main objectives were to evaluate the genetic variability of 13 pineapple genotypes to use their fibers as mechanical reinforcement in composites applied to the industry and analyze possible association of 217 bands from 17 ISSR markers with fiber quality characteristics by non-parametric tests (Spearman correlation and Kruskal-Wallis). The study of genetic diversity, through qualitative and quantitative data, shows that there are genotypes genetically close to curauá; whose fibers are most used in the industry. Eleven bands were selected based on their high correlation (0,63434^{*} to 0,76169^{**}) to all four variables for fiber quality, enabling the development of a set of primers which could be used in early selection of promising genotypes after sequencing and validation. The possibility of use of marker assisted selection for pineapple fiber quality will bring great returns, not only for the industry, whose market is growing, but also to ensure the sustainability of this productive sector. This is the first report of the use of non-parametric methods for fiber quality in this crop.

Key words: *Ananas comosus* (L.) Merr., genetic diversity, non parametric tests, Spearman; Kruskal-Wallis; DNA markers.

INTRODUÇÃO

Existe uma tendência global crescente em relação à maximização dos recursos naturais por meio de novos produtos e processos, o que leva à exploração de novos materiais a partir de recursos naturais renováveis em direção à sustentabilidade. Compósitos produzidos a partir de matrizes poliméricas reforçadas com fibras naturais vêm substituindo as fibras manufaturadas, e possuem propriedades mecânicas interessantes, além de serem ambientalmente corretos (BELTRAMI et al., 2014).

Existem vários trabalhos na literatura sobre o uso de fibras vegetais como reforço de compósitos de diferentes culturas como arroz, rami, juta, sisal, linhaça e abacaxi (MOHANTY et al., 2002; ROMANZINI et al., 2013; SENA NETO et al., 2013; 2015).

O abacaxi [*Ananas comosus* (L.) Merr.] é uma das principais frutas consumidas no mundo e no Brasil é produzida em todos os estados com uma área plantada de aproximadamente 61 mil ha e produção de 2,48 milhões de toneladas em 2013 (FAO, 2015).

Em relação ao uso de suas fibras como reforço mecânico em compósitos para a indústria, a maioria dos trabalhos realizados se referem às variedades comerciais e pouco tem sido explorado quanto às variedades silvestres ou híbridos, cujo potencial para fibra é ainda pouco conhecido (SENA NETO et al., 2013; 2015). Uma exceção é feita ao curauá (*A. comosus* var. *erectifolius*), cujas fibras já vêm sendo usadas como reforço mecânico nestes compósitos, principalmente por suas qualidades desejáveis (SENA NETO et al. 2013; 2015; BELTRAMI et al., 2014). A Embrapa possui uma grande coleção do gênero *Ananas*, com aproximadamente 600 acessos (SOUZA et al., 2012), que poderia ser mais bem explorada para essa finalidade.

No entanto, as caracterizações específicas para o uso de fibra vegetal no desenvolvimento de compósitos são laboriosas, implicam tempo, uma mão de obra especializada e um custo elevado. Dessa forma, o desenvolvimento de ferramentas moleculares que possam subsidiar a seleção assistida por marcadores (SAM) poderia ser de grande valia para ampliar a oferta de fontes de fibra de qualidade para a indústria. Em um trabalho preliminar, acessos do banco

de germoplasma de abacaxi e híbridos de curauá foram alvo de caracterizações quanto à qualidade de suas fibras para essa finalidade (SENA NETO et al., 2013; 2015).

Com base nos resultados, o presente estudo teve como objetivo identificar associações entre bandas provenientes de marcadores ISSR com as variáveis para qualidade de fibra nestes abacaxizeiros, cuja fenotipagem para qualidade de fibra já havia sido conduzida. O conjunto de bandas associadas servirá de base para a seleção assistida de forma a indicar precocemente, genótipos promissores para uso na crescente indústria, mediante posterior sequenciamento e validação. Esse trabalho é o primeiro relato do uso de testes não paramétricos em abacaxizeiros para essa finalidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

Para o estudo foram utilizados nove híbridos do programa de melhoramento genético da Embrapa Mandioca e Fruticultura, dois parentais (*Ananas comosus* var. *erectifolius* e *A. comosus* var. *bracteatus*) e duas espécies de bromélias (*Hohenbergia catingae* Ule e *Neoglaziovia variegata* Mez) (Tabela 1). A partir da caracterização para qualidade de fibra realizada por Sena Neto et al. (2013; 2015) foram obtidos resultados que serviram de base para seleção dos materiais que constam no presente trabalho.

Tabela 1. Genótipos utilizados nos estudos de qualidade de fibra e associação com bandas de marcadores ISSR via métodos não paramétricos e análise multivariada. Cruz das Almas, Bahia, 2015.

Nome	Nome Científico	Código (Sena Neto et al., 2015)
<i>Erectifolius</i>	<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr. var. <i>erectifolius</i> (L.B.Sm.) Coppens & F.Leal	Curauá
<i>Bracteatus</i>	<i>A. comosus</i> (L.) Merr. var. <i>bracteatus</i> (Lindl.) Coppens & F.Leal	BGA 110 (bract)
<i>Hohenbergia cantigae</i>	Ule	<i>Bilbergia</i> sp.
<i>Neoglaziovia variegata</i>	Mez	<i>Neoglasiovia</i>
FIBROX	<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i> x <i>A. comosus</i> var. <i>Bracteatus</i>	Erect x Bract PL 02
FIBEST	<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i> x <i>A. comosus</i> var. <i>Bracteatus</i>	Erect x Bract PL 01
FIBCER	<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i> x <i>A. comosus</i> var. <i>Bracteatus</i>	739 x 17 – PL03
FIBPOT	<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i> x <i>A. comosus</i> var. <i>Bracteatus</i>	750 x 128 – PL01
FIBMIN	<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i> x <i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	750 x 128 – PL02
FIBSAI	<i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i> x <i>A. comosus</i> var. <i>Erectifolius</i>	126 x 804 – PL08
FIBNEG	<i>A. comosus</i> (L.) Merr. var. <i>ananassoides</i> (Baker) Coppens & F.Leal x <i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i>	526 x 804 – PL01
FIBBOY	<i>A. comosus</i> var. <i>ananassoides</i> x <i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i>	526 x 804 – PL05
FIBMAC	<i>A. comosus</i> var. <i>comosus</i> x <i>A. macrodontes</i> E. Morren	Prima x Macrocl (716)

A extração do DNA dos 13 genótipos de abacaxizeiros foi realizada pelo método CTAB proposto por Doyle e Doyle (1990). As amostras foram diluídas para 10 ng μL^{-1} e mantidas à -20 °C até à sua utilização. As reações de amplificação foram preparadas com um volume final de 25 μM , contendo os seguintes reagentes: KCl 50 mM, Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), MgCl_2 2,5 mM, 100 mM de cada um dos dNTPs (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 0,2 mM de cada primer, 20 ng de DNA genômico e uma unidade de Taq DNA polimerase (Pharmacia Biotech, EUA).

Um total de 17 iniciadores ISSR foram utilizados no estudo (Tabela 2), com as amplificações de PCR realizadas em termociclador PTC-100 (MJ Research) de acordo com o seguinte programa: desnaturação inicial a 94 °C durante 3 min; 45

ciclos de desnaturação a 94 °C durante 45 s, anelamento do iniciador a 48 °C durante 45 s e extensão a 72 °C durante 1 min; e uma extensão final a 72 °C durante 7 min e 10 °C ∞ (WILLIAMS et al., 1990).

Tabela 2. Marcador ISSR usado no estudo de diversidade genética e nas análises não paramétricas. Cruz das Almas, Bahia, 2015.

Nome do Marcador	Sequência	Número de Bandas polimórficas
ISSR 07 DiCA5'CY	CYCACACACACACACACA	06
ISSR 24 DiGT5'A	AGTGTGTGTGTGTGTGT	15
ISSR 30 TriCAC3'YC	CACCACCACCACCACYC	11
ISSR 31 TriCAC5'CR	CRCACCACCACCACCAC	13
ISSR 32 TriCAC5'CY	CYCACACCACCACCACCAC	20
ISSR 35 TriCAG3'YC	CAGCAGCAGCAGCAGYC	05
ISSR 37 TriCAG5'CY	CYCAGCAGCAGCAGCAG	14
ISSR 39 TriGTG3'RC	GTGGTGGTGGTGGTGRC	11
ISSR 40 TriGTG3'YC	GTGGTGGTGGTGGTGYC	17
ISSR 47 TriTGT5'CY	CYTGTTGTTGTTGTTGT	13
ISSR 57 TriACC 3'RC	ACCACCACCACCACCRC	07
ISSR 62 TriAGG 3'RC	AGGAGGAGGAGGAGGRC	14
ISSR 79 TriCAC 3'RC	CACCACCACCACCACRC	09
ISSR 83 TriCTG 3'RC	CTGCTGCTGCTGCTGRC	10
ISSR 87 TriCGT 3'RC	CGTCGTCGTCGTCGTRC	15
ISSR 93 TriGAG 3'RC	GAGGAGGAGGAGGAGRC	12
ISSR 96 TriGTC 3'RC	GTCGTCGTCGTCGTCRC	17

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose a 2,5 %, tratado com brometo de etídio na concentração de 0,5 mg mL⁻¹ e visualizados em transiluminador de luz UV. Os perfis eletroforéticos das bandas foram fotografados utilizando o sistema de fotodocumentação Vilber Lourmat™.

Análise dos perfis eletroforéticos

Os fragmentos oriundos das reações de amplificação (Figura 1) de 217 bandas provenientes de 17 marcadores moleculares ISSR foram avaliados como ausência (0) e presença (1). A matriz de dissimilaridade genética para os dados moleculares foi calculada a partir do coeficiente de Jaccard (Índice do complemento de Jaccard = 1 - c). A matriz de distância foi calculada por meio do

programa computacional PAST versão 1.34 (HAMMER et al., 2005) e em seguida utilizada para realizar a análise de agrupamento pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method With Arithmetic Mean*). A validação do agrupamento foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenético (CCC) (SOKAL; ROLF, 1962).

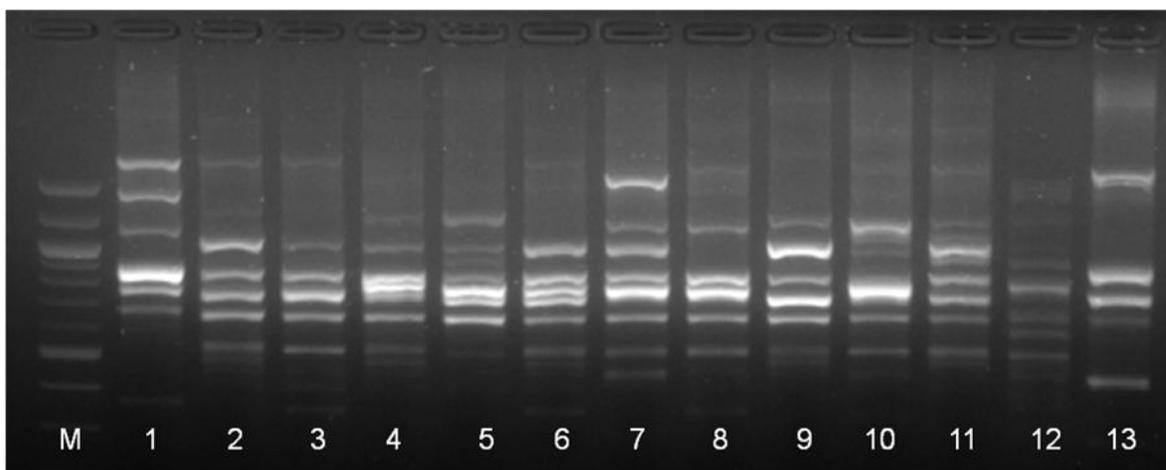


Figura 1. Perfil eletroforético do primer 31 dos genótipos de abacaxizeiro 1-13: 1- *N. variegata*; 2- FIBROX; 3- FIBEST; 4- FIBCER; 5- FIBPOT; 6- FIBSAI; 7- FIBNEG; 8- FIBBOY; 9- FIBMIN; 10- FIBMAC; 11- *Bracteatus*; 12- *Erectifolius*; 13- *H. cantigae* em gel de agarose 2%. M = ladder 100 pb.

Análise das características fenotípicas

A qualidade de fibra foi avaliada por Sena Neto et al. (2013; 2015) nesses mesmos genótipos para quatro variáveis [índices de cristalinidade de celulose (I_c), temperatura “onset” de degradação termoxidativa (TODTO), resistência à tração (σ_s), módulo elástico (E) das fibras (Tabela 3). Foi calculada a dissimilaridade para os dados quantitativos utilizando a distância euclidiana média. A matriz de distância foi calculada por meio do programa computacional GENES (CRUZ et al., 2006) e em seguida utilizada para realizar a análise de agrupamento pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method With Arithmetic Mean*). A validação dos agrupamentos foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenético (CCC) (SOKAL; ROLF, 1962).

Tabela 3. Valores dos índices de cristalinidade de celulose (l_c), temperatura “onset” de degradação termo-oxidativa (TODTO), resistência à tração (σ_s), módulo elástico (E) das fibras de folhas dos abacaxis estudados.

Código	l_c (%)	TODTO (°C)	σ_s (MPa)	E (GPa)
<i>Neoglaziovia variegata</i> Mez	73,0	257	629	37
<i>Hohenbergia cantigae</i> Ule	48,7	249	212	15
Curauá– <i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i>	64,0	256	753	54
<i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i>	70,8	240	828	75
FIB-ROX	73,5	252	1.049	51
FIB-EST	70,3	258	1.092	59
FIB-CER	74,7	261	1.071	59
FIB-POT	78,7	264	1.231	73
FIB-SAI	77,6	272	1.221	86
FIB-NEG	61,0	268	1.100	75
FIB-BOY	73,6	249	1.309	76
FIB-MIN	62,9	248	891	65
FIB-MAC	74,7	254	832	50

Análise conjunta dos dados moleculares e fenotípicos

Uma análise de agrupamento conjunta dos dados moleculares e fenotípicos foi realizada para determinação da distância genética, com base no algoritmo de Gower (1971). A validação dos agrupamentos foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenético (CCC) (SOKAL; ROLF, 1962).

Análises não paramétricas

A análise de correlação entre as quatro variáveis para qualidade de fibra e as 217 bandas provenientes dos 17 marcadores moleculares, foi calculada via correlação de Spearman e o teste de Kruskal Wallis (teste não paramétrico) utilizando-se os procedimentos: *corr* e *npar1way* no programa estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 2010).

Para todas as análises supracitadas, os pontos de corte dos dendrogramas foram definidos de acordo com o critério do ponto de fusão descritos por Mingoti (2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversidade genética baseada nos dados moleculares - marcadores ISSR

Todos os 17 primers testados nos 13 genótipos geraram bandas de fácil detecção nos géis de agarose, proporcionando um total de 217 bandas. A quantidade de bandas por primer variou de 5 (ISSR 35) a 20 (ISSR 32), com média de 12 bandas por primer.

Os valores das distâncias genéticas com base na matriz de dissimilaridade para os dados moleculares variaram de 0,09 a 0,64. O dendrograma gerado a partir do índice de Jaccard, por meio da dissimilaridade entre os genótipos demonstrou a formação de quatro grupos (Figura 2. A). O G1 foi constituído pela espécie *H. catingae*, o G2 por dez genótipos, sendo oito híbridos e seus respectivos parentais, *A. comosus* var. *erectifolius* e *A. comosus* var. *bracteatus*, o G3 por um híbrido envolvendo duas espécies (*A. comosus* var. *comosus* e *A. macrodontes*) e o G4 pela espécie *N. variegata*. Os acessos menos dissimilares geneticamente foram os híbridos FIB-MIN e FIB-POT e as maiores dissimilaridades foram observadas entre a *H. catingae* e demais genótipos estudados.

A princípio, os híbridos FIB-ROX, FIB-EST, FIB-CER FIB-POT, FIB-SAI, FIB-NEG, FIB-BOY e FIB-MIN, todos provenientes de cruzamentos da variedade referência (curauá) são considerados promissores, uma vez que se encontram geneticamente mais próximos e deverão ser investigados com mais critério a fim de poderem ser utilizados como fonte de fibra de qualidade na indústria.

Diversidade baseada nas características fenotípicas

Como mencionado anteriormente, os dados relacionados às características para qualidade de fibra dos genótipos presentes no estudo foram obtidos dos trabalhos desenvolvidos previamente por Sena Neto et al. (2013; 2015).

Em relação às variáveis quantitativas, pode-se observar no dendrograma a formação de dois grupos a partir da distância euclidiana média (Figura 2. B). No G1 encontram-se a *H. catingae*, espécie completamente distinta e que provavelmente se isolou das demais devido aos valores de índices de cristalinidade de celulose (48,7%), resistência à tração (212 MPa) e módulo elástico (15 GPa) das fibras serem bem inferiores em comparação aos valores dos demais genótipos. O G2 foi formado por todos os híbridos, seus parentais e a

N. variegata. Esse agrupamento justifica-se pelo fato de apresentarem valores próximos para as quatro características analisadas.

Foi possível observar que os híbridos apresentam grande potencial para possível utilização como reforço mecânico, já que, conforme as matrizes de distâncias genéticas, os mesmos apresentaram similaridade com o curauá, tanto genética quanto em relação às propriedades requeridas pela indústria de compósitos para reforço mecânico.

Análise de agrupamento conjunta

Para se obter uma análise mais completa, aproveitando os dados tanto moleculares, quanto fenotípicos, procedeu-se à análise de agrupamento conjunta. Essa análise, realizada com os 13 genótipos, 217 bandas de marcadores ISSR e quatro variáveis para qualidade de fibra, permitiu a formação de quatro grupos (Figura 2. C) pelo método de agrupamento UPGMA a partir do algoritmo de Gower, utilizando o critério do ponto de fusão (MINGOTI, 2005) como ponto de corte. Os valores da distância genética variaram de 0,14 a 0,50, sendo que os indivíduos mais dissimilares foram o híbrido FIB-CER e *H. cantigae* e os menos dissimilares, os híbridos FIB-EST e FIB-POT, bem como FIB-POT e FIB-SAI. O G1 foi formado apenas pelo *H. catingae*. No grupo G2 observou-se sete híbridos e os seus parentais, no G3 dois híbridos FIB-MIN e FIB-MAC, que apesar de serem diferentes quanto a sua constituição genética, compartilham valores similares para todas as características quantitativas da fibra, e por fim, o G4, com a espécie *N. variegata*.

A análise de agrupamento conjunta, em que diversos caracteres podem ser dimensionados simultaneamente, tem oferecido contribuições efetivas na identificação de genótipos para serem utilizados em programas de melhoramento genético (SOUZA et al., 2012). A utilização conjunta de dados de natureza qualitativa e quantitativa pode fornecer uma melhor indicação da potencialidade da variabilidade existente.

Com relação aos coeficientes de correlação cofenético, foram obtidos valores de 0,96, 0,87 e 0,96 para os dados avaliados pelo índice de Jaccard, distância euclidiana e pela distância de Gower (1971), respectivamente. Na concepção de Sokal e Rohlf (1962), valores de correlação cofenética superiores a

0,80 indicam bom ajuste entre as matrizes originais de distância e as derivadas das distâncias gráficas, o que corrobora a maior confiabilidade do agrupamento do método UPGMA.

Esse trabalho está em concordância com os resultados apresentados por Sena Neto et al. (2013; 2015), no qual os autores demonstram que há diferenças significativas nas propriedades térmicas e mecânicas para a qualidade da fibra nos diferentes genótipos de abacaxizeiros estudados, oferecendo assim mais opções para o uso das fibras como reforço mecânico para compósitos industriais. Entre as três técnicas de análise de agrupamento utilizadas, duas apresentaram concordância para a menor distância genética encontrada entre os híbridos FIB-POT e FIB-BOY em relação a cultivar referência curauá. Esse fato pôde ser observado mediante as medidas obtidas via índice de Jaccard e distância de Gower (1971) e já permitem identificar materiais promissores a serem melhor explorados para a indústria com base em suas proximidades genéticas com o curauá, tido como referência.

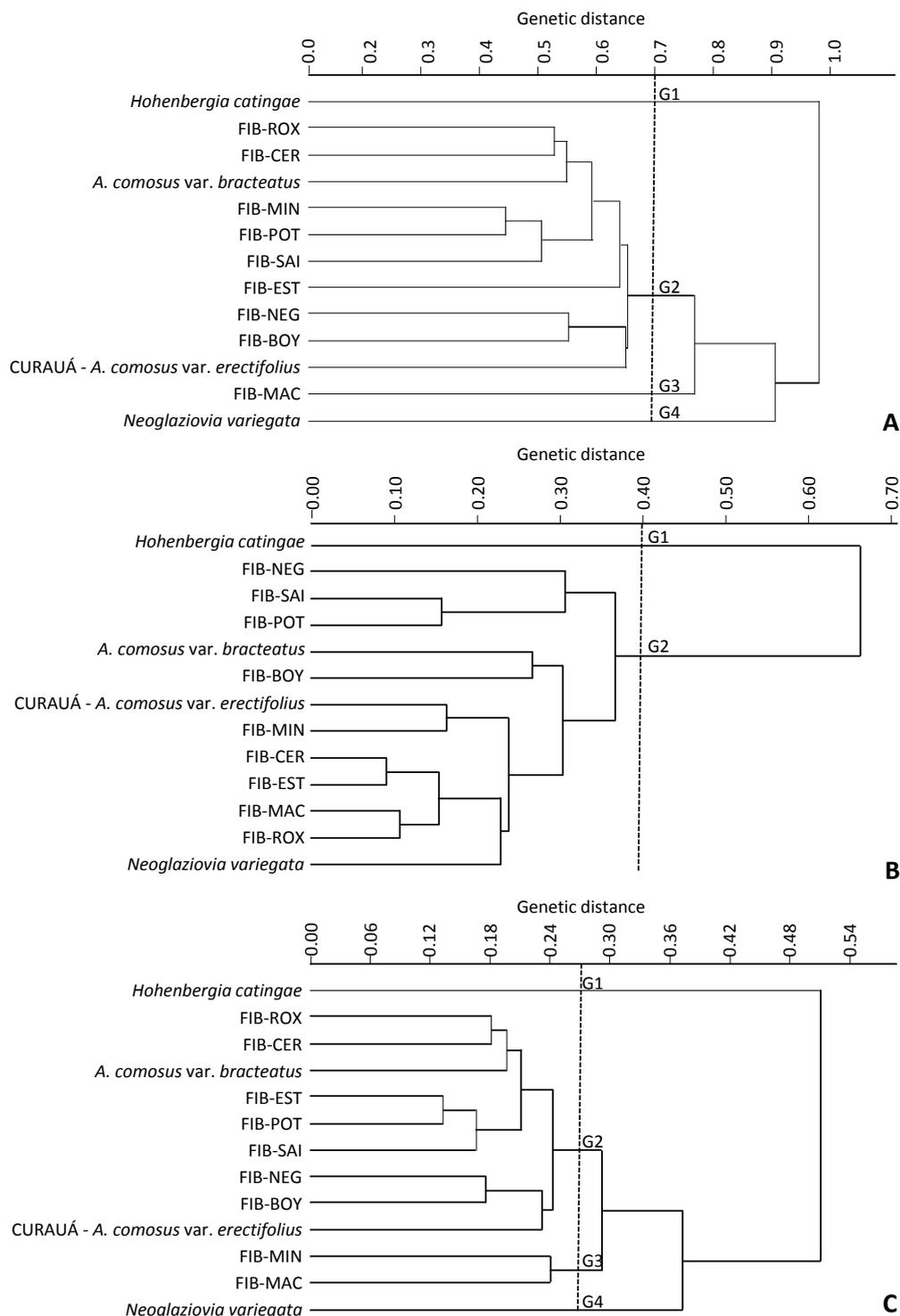


Figura 2. Dendrograma construído a partir de 13 genótipos de abacaxizeiros. **A)** Dendrograma a partir de 217 bandas provenientes de 17 marcadores ISSR utilizando-se o índice de Jaccard. **B)** Dendrograma a partir de quatro variáveis para qualidade de fibra por meio da distância Euclidiana média. **C)** Dendrograma a partir de dados moleculares e fenotípicos para qualidade de fibra por meio da distância de Gower (1971). Cruz das Almas, Bahia, 2015.

Análises via testes não paramétricos

Foram observadas 11 correlações significativas (variando de 0,63434* a 0,76169**) para todas as variáveis de qualidade de fibra caracterizadas previamente por Sena Neto et al. (2013; 2015) (Tabela 4).

Tabela 4. Correlação de Spearman e Kruskal Wallis usados para análise de ligação entre marcadores moleculares e variáveis para qualidade de fibras de abacaxizeiros. Cruz das Almas, Bahia, 2015.

Marcador	Variável	Spearman	χ^2	Pr > χ^2
M124-ISSR 32	Temp. “onset” de degradação termoxidativa (TODTO)	0,76169**	6,96	0,0083
M20-ISSR 31	Módulo elástico (<i>E</i>)	0,73394**	6,46	0,0110
M173-ISSR 93	Módulo elástico (<i>E</i>)	0,73354**	6,46	0,0110
M70-ISSR 40	Índice de cristalinidade de celulose (<i>Ic</i>)	0,67705*	5,50	0,0190
M71-ISSR 40	Índice de cristalinidade de celulose (<i>Ic</i>)	0,67705*	5,50	0,0110
M117-ISSR 32	Temp. “onset” de degradação termoxidativa (TODTO)	0,66907*	5,37	0,0205
M197-ISSR 35	Resistência à tração (σ^2)	0,66815*	5,36	0,0206
M57-ISSR 79	Temp. “onset” de degradação termoxidativa (TODTO)	0,64889*	4,63	0,0314
M130-ISSR 32	Módulo elástico (<i>E</i>)	0,64097*	4,93	0,0264
M173-ISSR 93	Resistência à tração (σ^2)	0,63439*	4,83	0,0280
M132-ISSR 32	Resistência à tração (σ^2)	0,63434*	4,83	0,0280

No geral, as correlações entre as 217 bandas dos 17 marcadores ISSR e as quatro variáveis fenotípicas para qualidade de fibra, variaram de 0 a 0,76**. Para o índice de cristalinidade de celulose (*Ic*), houve correlação com duas bandas, M70 e M71, para um único marcador ISSR 40, ambas com valores de 0,67705*. Para a resistência à tração (σ^2), as bandas M197 do marcador ISSR 35, M173 do marcador ISSR 93 e a banda M0132 do marcador ISSR 32, apresentaram correlações variando de 0,66815* a 0,63434*. Em se tratando do módulo elástico (*E*), três bandas, M20 do ISSR 31, M173 do ISSR 93 e M130 do

ISSR 32, apresentaram correlação, com valores variando de 0,73393**, 0,73354** e 0,64097*, respectivamente.

A maior correlação entre banda e característica para qualidade de fibra foi para o marcador ISSR 32, banda M 124, para a variável, temperatura “onset” de degradação termooxidativa (TODTO), com valor de correlação de 0,76169**. Outras duas correlações altas foram obtidas para essa mesma variável com as bandas M117 e M57 e seus respectivos marcadores ISSR 32 e ISSR 79.

Sena Neto et al. (2013; 2015) relata que a temperatura “onset” de degradação termooxidativa serve como referência para limitar a temperatura de trabalho a qual as fibras serão submetidas, portanto, uma característica de fundamental importância e um dos principais fatores limitantes na utilização de fibras lignocelulósicas como reforço em materiais compósitos.

Testes não paramétricos são encontrados na literatura, principalmente quando se avalia um pequeno número de genótipos, sem que haja normalidade dos dados (SINGH et al., 2013).

Nesse trabalho, o fato de 13 genótipos de abacaxi já terem sido bem fenotipados para quatro variáveis relacionadas à qualidade da fibra e, uma vez genotipados via marcadores ISSR, tentou-se, em caráter investigativo, avaliar uma possível correlação entre bandas dos marcadores de DNA e as características para qualidade de fibra por meio de testes não paramétricos. Como mencionado anteriormente, esses testes não requerem repetições e não consideram distribuição normal dos dados e por isso foram escolhidos para verificar a possibilidade, ou não, de associação entre banda e as características de interesse aqui avaliadas, uma vez que a principal limitação estaria na fenotipagem para qualidade de fibra; etapa essa que é laboriosa e limitante no caso do abacaxi e que já havia sido conduzida (SENA NETO et al., 2013; 2015).

Embora se saiba que as características para qualidade de fibra são, a princípio, de caráter quantitativo e que seguem uma normalidade dentro de uma população, a falta de uma população segregante, bem como o impedimento, no caso do abacaxizeiro quanto à avaliação das características termogravimétricas de suas fibras, fez com que se investigasse a possibilidade do uso de testes não paramétricos para avaliar uma possível correlação entre bandas de marcadores ISSR e essas características.

O esperado, ao se utilizar os testes não paramétricos, seria não haver correlações altas significativas entre a banda do marcador e a característica. Contrariando esta prerrogativa, esse resultado preliminar, demonstrou haver correlações altas e significativas a 5 e 1 % de probabilidade, que poderão ser exploradas na seleção assistida promovida por um conjunto de marcas.

O uso de testes não paramétricos para esse fim, portanto, pode se tornar uma alternativa viável, uma vez que a caracterização fenotípica para qualidade de fibras em abacaxi é praticamente inviável quando se trata de um grande número de acessos. Testes não paramétricos com o procedimento de correlação de Spearman e Kruskal-Wallis foram utilizados para identificar possível associação entre marcadores potencialmente ligados à fusariose no feijão Guandu (SINGH et al., 2013).

No trabalho de Singh et al. (2013), 36 genótipos elite de *Cajanus cajan* com diferentes níveis de resistência à fusariose foram avaliados por 24 marcadores SSRs e testes não paramétricos, dos quais seis marcas apresentaram-se significativamente ligadas à resistência, com variabilidade fenotípica variando de 23,7 a 56,4%.

No trabalho aqui apresentado, as bandas altamente correlacionadas deverão posteriormente ser sequenciadas com o intuito de gerar marcadores SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*), que por sua vez, deverão ser validados nos acessos do BAG Abacaxi. A princípio, sabendo-se da dificuldade da fenotipagem para características de fibra para uso na indústria, esses marcadores poderão ser primeiramente validados em materiais cuja origem genética é conhecida, como acessos com um background genético que possua algum desses híbridos em sua constituição genética e materiais contrastantes aumentando assim a acurácia do uso desses marcadores SCAR na seleção assistida.

A ideia é dar início a esse processo e no futuro, com o aprimoramento das técnicas de fenotipagem, que atualmente é o mais limitante para a cultura, extrapolar para estudos de mapeamento associativo.

Vale a pena ressaltar que para se ter uma boa validação e pensar em um futuro com estudos de mapeamento associativo, é necessário que haja condição de executar a fenotipagem em um grande número de indivíduos e que a mesma

seja muito bem conduzida, pois essa é a etapa que mais limita o uso das técnicas *high-throughput*.

A princípio, onze bandas foram escolhidas, mas outras combinações poderão ser formadas, pois quanto maior o número de bandas usadas em conjunto, maior a probabilidade de sucesso.

O uso de fibras de abacaxi como alternativa ao uso de outras fibras naturais como reforço mecânico em compósitos biodegradáveis já é uma realidade (SENA NETO et al., 2015), principalmente por suas qualidades, dureza e rigidez bem específicas e, sobretudo devido à alta aceitação e baixo custo (MOHANTY et al., 2002).

Considerando a importância deste cultivo no País, a área plantada, e a possibilidade de se obter fibras em quantidade para escala industrial, os resultados deste trabalho são promissores para consolidar a fibra do abacaxi como reforço na formulação de compósitos, com destaque para os híbridos avaliados. Por outro lado, a possibilidade de se ter uma ferramenta capaz de identificar outros abacaxis promissores, com fibras de qualidade que possam ser usadas no melhoramento para esse fim, garante a sustentabilidade do uso de fibras de abacaxi no setor industrial.

Esse é o primeiro passo para se aplicar diretamente a SAM em um futuro próximo e com isso permitir um avanço nesse crescente setor produtivo.

CONCLUSÃO

Os testes não paramétricos Spearman x Kruskal Wallis, permitiram identificar associações significativas entre banda de marcadores ISSR e característica de qualidade de fibra que poderão, mediante sequenciamento e validação, incrementar o melhoramento da cultura de forma a garantir a sustentabilidade desse crescente setor industrial.

REFERÊNCIAS

BELTRAMI, L. V. R.; BANDEIRA, J. A. V.; SCIENZA, L. C.; ZATTERA, A. J. Biodegradable composites: morphological, chemical, thermal and mechanical properties of composites of Poly (hydroxybutyrate – co- hydroxyvalerate) with curauá fibers after exposure to simulated soil. **Journal of Applied Polymer Science** v. 131, n. 17 p. 1-8, 2014.

CRUZ, C. D. **Programa GENES**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 442 p. 2006.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-15, 1990.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) Database, United States: Database.United States: **FAO/FAOSTAT**, Disponível em: <[http://faostat,fao,org](http://faostat.fao.org)>, Acesso em: 12 Jun 2015.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties, **Biometrics**, v. 27, n. 4, p. 857-874, 1971.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. **PAST – Paleontological Statistics**, ver. 1.34. 2005.

MARSAFARI, M.; MEHRABI, A. Molecular identification and genetic diversity of Iranian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars using ISSR and RAPD markers. **Australian Journal of Crop Science** v. 7, n. 8, p. 1160-1166, 2013.

MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada**: uma abordagem aplicada. Elo Horizonte: UFMG, 295p. 2005.

MOHANTY, A. K.; MISRA, M.; DRZAL, L. T. Sustainable bio-composites from renewable resources: opportunities and challenges in the green materials world. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 10, n. 1-2, p. 19-26, 2002.

ROMANZINI, D.; LAVORATTI, A.; ORNAGHI, H. L.; AMICO, S. C.; ZATERRA, A. Influence of fiber content on the mechanical and dynamic mechanical properties of glass/ramie polymer composites. **Materials and Design**, v. 47, p. 9-15, 2013.

SAS Institute Inc. **SAS/STAT**: user's guide, v.9,2. Cary, NC, 2010.

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

SENA NETO, A. R.; ARAUJO, M. A.; SOUZA, F. V.; MATTOSO, L. H.; MARCONCINI, J. M. Characterization and comparative evaluation of thermal, structural, chemical, mechanical and morphological properties of six pineapple leaf fiber varieties for use in composites. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 529-537, 2013.

SINGH, A. K.; RAL, V. P.; CHAND, R.; SINGH, R. P.; SINGH, M. N. Genetic diversity studies and identification of SSR markers associated with *Fusarium* wilt (*Fusarium udum*) resistance in cultivated pigeonpea (*Cajanus cajan*). **Journal of Genetics**, 92, n. 2, 273-280, 2013.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, v. 11, n. 2, p. 33-40, 1962.

SOUZA, E. H.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. P. C.; COSTA JUNIOR, D. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; AMORIM, E. P.; LEDO, C. A. S. Genetic variation of the *Ananas* genus with ornamental potential. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, n. 7, p. 1357-1376, 2012.

TONK, F. A.; TOSUN, M.; ILKER, E.; ISTIPLILER, D.; TATAR, O. Evaluation and comparison of ISSR and RAPD markers for assessment of genetic diversity in *Triticale* genotypes. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 20, n. 6, p. 1413-1420, 2014.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**. v. 18, n. 22, p. 6531-6535, 1990.

WU, C.; ZHONG, C.; ZHANG, Y.; JIANG, Q.; CHEN, Y.; CHEN, Z.; PINYOPUSARERK, K.; BUSH, D. Genetic diversity and genetic relationships of *Chukrasia* spp. (Meilaceae) as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) markers. **Trees**, v. 28, n. 6, p. 1847-1857, 2014.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de um novo híbrido deve vir acompanhado de um conjunto de avaliações para que seja possível a confirmação das características selecionadas, assim como sua adoção por produtores ou pelo segmento para o qual foi desenvolvido.

Os híbridos que foram o foco deste trabalho, apesar de terem sido desenvolvidos para uso ornamental, tinham o curauá como um dos parentais, o que motivou a realização de uma avaliação para a qualidade de suas fibras. Essa caracterização foi realizada em um trabalho prévio e feita em parceria com a Embrapa Instrumentação e a Universidade de São Carlos. Os híbridos com qualidade de fibra compatível ou superior ao curauá foram selecionados para a realização deste trabalho.

A avaliação clonal é um passo importante para a confirmação das características selecionadas, assim como garante a propriedade intelectual dos híbridos se assim se fizer necessário no futuro. Em função disso foi realizada com base nas diretrizes do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e de fato foi possível comprovar que três dos quatro híbridos avaliados se enquadram dentro dos parâmetros exigidos e conseqüentemente são passíveis de uma futura ação para proteção intelectual.

As avaliações bromatológicas se constituíram em uma atividade complementar, mas de relevância, pela proposta, não apenas de se tornar mais uma alternativa para a alimentação animal, mas também para oferecer ao produtor, a possibilidade de se usar a planta completa. Os resultados demonstraram que o bagaço gerado após o desfibramento mecânico da folha

pode, de fato, se constituir em uma alternativa interessante para complementar a alimentação animal. Dessa forma, mesmo que o híbrido seja cultivado para seu uso ornamental, o produtor comercializa a haste, utiliza as folhas para o uso de suas fibras e o bagaço resultante deste desfibramento para complemento alimentar dos animais. Um complemento na renda que pode ser significativo ao produtor.

Por outro lado, não existe adoção de novos materiais se não houver a possibilidade de ofertar muda em larga escala. Os resultados obtidos neste trabalho mostraram a possibilidade de se utilizar técnicas de micropropagação para produzir mudas destes híbridos, mas deixou evidente também que esses resultados podem melhorar muito a partir de mudanças neste protocolo. A diferença de resposta dos híbridos reforça mais esta demanda.

Finalmente, vale destacar a variabilidade genética que ainda existe para ser explorada dentro do gênero *Ananas*, para o uso de fibras considerando o Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Mandioca e Fruticultura. No entanto, devido à natureza das caracterizações necessárias, laboriosas e de custo elevado, esse trabalho seria impossível sem uma estratégia adicional. Por isso decidiu-se neste estudo tentar gerar conhecimentos que pudessem subsidiar uma seleção assistida por marcadores moleculares. Assim, foi possível correlacionar marcas provenientes de marcadores ISSR com as características de qualidade de fibra. Esse estudo gerou informações importantes, que serão utilizadas em estudos posteriores para sequenciamento das bandas e validação em acessos do BAG Abacaxi visando o uso da seleção assistida por marcadores na identificação precoce de materiais promissores para a indústria.

A possibilidade do uso das informações obtidas neste trabalho trará grandes benefícios, não somente para o Programa de Melhoramento Genético de Abacaxizeiros da Embrapa Mandioca e Fruticultura, mas, sobretudo para o setor industrial que faz uso de fibras lignocelulósicas como reforço em compósitos poliméricos, cujo mercado está em ascensão, que poderá contar com materiais vegetais detentores de fibra de qualidade, sendo uma alternativa viável e sustentável além do uso do curauá.