

## ESTABELECIMENTO DE UM PROTOCOLO REGENERATIVO PARA A MICROPROPAGAÇÃO DO ABACAXIZEIRO<sup>1</sup>

MIGUEL PEDRO GUERRA<sup>2</sup>, LÍRIO LUIZ DAL VESCO<sup>3</sup>, ROSETE PESCADOR<sup>4</sup>,  
ADILSON RICKEN SCHUELTER<sup>3</sup> e RUBENS ONOFRE NODARI<sup>2</sup>

RESUMO - No Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal do CCA-UFSC, nos anos de 1993 a 1996, foram testadas 24 combinações de tratamentos envolvendo dois genótipos de abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merr.), seis combinações dos fitorreguladores ácido naftalenoacético (ANA) e 6-benzilaminopurina (BAP), e os meios de cultura líquidos e geleificados, com o objetivo de estabelecer um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. A taxa de regeneração comportou-se de forma quadrática para a maioria das combinações testadas. O meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), líquido, adicionado de ANA (2,7 µM) e BAP (4,4 µM), proporcionou uma taxa média de regeneração de 19,7 brotos/explante. A magnitude do efeito genotípico exibido pelas cultivares utilizadas foi intermediária entre o efeito das combinações dos níveis de ANA e BAP (o maior) e o efeito da constituição física do meio de cultura. A melhor combinação de tratamentos foi testada em 17 acessos coletados no Estado de Santa Catarina, demonstrando-se a eficiência do protocolo regenerativo. A taxa média de regeneração foi de 15,3 brotos/explante, dos quais 40% apresentaram altura igual ou inferior a 3 cm. Brotos enraizados ou não, com altura igual ou superior a 3 cm, apresentaram valores médios de 95,5% de sobrevivência.

Termos para indexação: cultura de tecidos, taxa de regeneração, *Ananas comosus*, propagação clonal.

### ESTABLISHMENT OF A REGENERATIVE PROTOCOL FOR THE PINEAPPLE MICROPROPAGATION

ABSTRACT - Twenty-four treatment combinations among genotypes, physical medium composition and plant growth regulator levels of naphthaleneacetic acid (NAA) and 6-benzilaminopurine (BAP) were evaluated in order to identify the most efficient combination for the pineapple micropropagation in the laboratory of the Universidade Federal de Santa Catarina, Brazil, from 1993 to 1996. During seven weeks after the inoculation, the regeneration rate behaved as a quadratic function for most of the combinations. In one case (liquid medium, cultivar Primavera), the response followed a linear model. Among the treatments, the most efficient was the combination of MS (Murashige & Skoog, 1962) liquid medium with NAA (2.7 µM) and BAP (4.4 µM) which produced 19.7 shoot/explant, a significant deviation from the mean average (12 shoot/explant). The genotypic effect exhibited by two genotypes (Perolera and Primavera), expressed in terms of regeneration rate, was intermediary between the effect of the plant growth regulators levels and the physical medium constitution. The best treatment combination was tested in 17 other genotypes collected in the Santa Catarina State. In average, it was produced 15.3 shoot/explant, five weeks after the explant inoculation, 40% of which showing height near 3 cm. When submitted to acclimatization, 95.5% of the plantlets survived.

Index terms: tissue culture, organ culture, regeneration rate, mass clonal propagation, *Ananas comosus*.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 11 de dezembro de 1998.

<sup>2</sup> Eng. Agr., Dr., Prof. Titular, Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV), Dep. de Fitotecnia, UFSC, CEP 88040-900 Florianópolis, SC. E-mail: mpguerra@cca.ufsc.br

<sup>3</sup> Eng. Agr., M.Sc., UFSC.

<sup>4</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, M.Sc., Centro de Ciências Exatas e Naturais, FURB, CEP 89010-971 Blumenau, SC.

## INTRODUÇÃO

Em Santa Catarina, como em todo o Brasil, a cultura do abacaxizeiro concentra-se no plantio de duas cultivares, Pérola e Smooth Cayenne. A partir da década de 70, verificou-se uma progressiva redução na área cultivada, devido ao ataque intenso

da fusariose, causada por *Fusarium moniliforme* Shield var. *subglutinans* WR., que associada à ocorrência da broca-do-fruto (*Tecla basalides* Geyer) resultou em sérios problemas para a abacaxicultura catarinense e brasileira (Koller, 1981; Giacomelli & Teófilo Sobrinho, 1984).

A utilização de mudas infectadas é a forma preponderante de disseminação do patógeno causador da fusariose em todas as regiões produtoras de abacaxi no Brasil. Como forma de controle, recomenda-se o uso de mudas isentas da doença (Couto et al., 1984) e a utilização de cultivares resistentes (Cabral & Matos, 1986).

Técnicas de cultura de tecidos vegetais estão sendo aplicadas para a micropropagação clonal de variedades cultivadas em diversos países da América Central e da Ásia. Nesses países, processos de desenvolvimento e otimização de protocolos regenerativos proporcionaram a produção de mudas sadias em larga escala, em laboratórios industriais denominados biofábricas. A principal vantagem da micropropagação é a fixação de ganhos genéticos nas populações clonais e a obtenção de um grande número de plantas sadias e de alta qualidade em pequeno espaço físico e em curto tempo, independentemente de fatores climáticos limitantes. Conseqüentemente, a propagação clonal em larga escala de variedades recém-melhoradas seria dependente unicamente de uma eficiente capacidade de produção laboratorial (Vaz & Nogueroles, 1981). Os primeiros trabalhos com a micropropagação do abacaxizeiro foram realizados por Aghion & Beauchesne (1960). Desde então vários artigos foram publicados sobre o assunto, destacando-se o de Rangan (1984), que estabeleceu um dos primeiros protocolos para a micropropagação dessa espécie.

Este trabalho teve como objetivos estabelecer um protocolo de micropropagação para diferentes cultivares de abacaxi, testar este protocolo na produção de mudas isentas de fusariose de 17 acessos coletadas no Estado de Santa Catarina das cultivares Pérola, Smooth Cayenne, Amarelo e Amarelinho e identificar eventuais diferenças nas respostas de regeneração *in vitro* de diferentes genótipos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado entre 1993 e 1996, no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina.

Utilizou-se como explantes gemas laterais de mudas de abacaxizeiro das cultivares Perolera e Primavera, que são moderadamente resistentes à fusariose, provenientes de mudas fornecidas pela Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas (BA), as quais foram mantidas em vasos em casa de vegetação. As gemas axilares, após a excisão, foram submetidas a um processo de assepsia mediante a imersão em álcool 70% (1 minuto) seguido por uma imersão em solução aquosa de NaOCl 2% (15 minutos) e de três passagens por água destilada e esterilizada.

### Experimento 1

Usou-se o delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 2x2x6, sendo testadas duas cultivares (Perolera e Primavera), dois tipos de meio quanto à natureza física (líquido e geleificado com 6,5 g/L de ágar) e seis combinações de fitorreguladores (cada uma das duas concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) 2,7 e 5,4 µM foi combinado com cada uma das três concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) 4,4, 8,9 e 13,3 µM), totalizando 24 tratamentos. As unidades experimentais foram constituídas de seis gemas, distribuídas em dois frascos com 30 mL de meio de cultura, os quais foram arranjados de forma completamente casualizada, com duas repetições. Na prática, o experimento foi replicado 12 vezes para possibilitar as avaliações semanais entre a segunda e a sétima semana após a inoculação, em duas repetições, nas quais 12 plântulas por tratamento eram retiradas aleatoriamente.

O meio de cultura utilizado foi constituído pela formulação salina e vitaminas de MS (Murashige & Skoog, 1962), adicionado de 3% de sacarose. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. As culturas estabelecidas em meio líquido em ponte de papel-filtro foram mantidas em ausência de agitação.

Os dados foram submetidos à análise de regressão para avaliar a capacidade regenerativa de brotos em função do tempo (semanas) de cultivo. Os dados coletados na quinta semana foram submetidos à análise de variância e ao teste de separação de médias Student-Newman-Keuls (SNK-5%) (Steel & Torrie, 1980).

### Experimento 2

Neste experimento, estabelecido com o objetivo de verificar a repetibilidade, em outros genótipos, da melhor com-

bição de tratamentos indicada pelo experimento anterior, foram utilizados como explantes gemas axilares da porção mediana do talo de plantas matrizes de 17 acessos, coletados em vários municípios do litoral centro-sul de Santa Catarina, pertencentes aos grupos varietais: Pérola (1SJS, 2SJS, 3SJS, 4SJS, 5SJS, 6JAG, 8NVZA, 9CAS, 10TMAI, 10TMAII, 10TMAIII, 11ARM, 12ARM e Ratonas); Amarelinho (7NVZA); Smooth Cayenne (13ARM), e Amarelo (14NVZA). Após a desinfestação dos explantes, que foi feita da forma descrita anteriormente, as gemas foram inoculadas em meio de cultura líquido constituído da formulação salina e vitaminas MS (Murashige & Skoog, 1962), adicionado de ANA (2,7 µM) e BAP (4,4 µM), e 3% de sacarose, no sistema de ponte de papel-filtro. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. Aos 45 dias, as gemas em proliferação foram transferidas para frascos de cultura contendo 30 mL de meio líquido, com a mesma composição do meio de indução. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 27°C, umidade relativa de 60±5% e luminosidade de 37 µE/m<sup>2</sup>/s. Na quinta semana foram coletados os dados de taxa de regeneração de brotos para todos os acessos, contudo os dados do acesso Ratonas foram considerados perdidos.

Plântulas que apresentavam altura mínima de 3 cm, com ou sem raízes, foram retiradas do meio de multiplicação e transferidas para bandejas de isopor, cujas células apresentavam um volume de 120 cm<sup>3</sup>, contendo como substrato um composto de casca de arroz carbonizada e solo arenoso (Podzólico Vermelho-Amarelado) na proporção volumétrica de 1:1, ao qual foi adicionado de 7,5 g da formulação NPK (5-20-10) por 20 kg de substrato. A aclimatação compreendeu inicialmente 10 dias em câmara de fitotron, com temperatura de 35°C e fotoperíodo de 16 horas. Para criar um microclima visando impedir a perda de água pelas folhas, colocou-se acima das bandejas um filme de plástico transparente. Após, as plântulas foram transferidas para sacos de polietileno contendo o mesmo substrato utilizado na bandeja de isopor e dispostas em túnel de nebulização. Aos 30 dias após a transferência, avaliou-se a porcentagem de sobrevivência das mudas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Taxa de regeneração

O modelo linear foi o mais adequado para explicar a evolução da taxa média de regeneração da cultivar Primavera em meio líquido, enquanto nas demais combinações de tratamentos foi quadrático (Fig. 1). A maior taxa de regeneração (27,5) foi observada com a cultivar Perolera após um período

de cultivo de sete semanas em meio líquido. A existência da associação entre a taxa de proliferação e o tempo de cultivo foi verificada pela evolução da taxa de regeneração que cresceu ao longo das sete semanas (Fig. 1).

Entretanto, na micropropagação de plantas há a necessidade de se compatibilizar o tempo de cultivo, o número de repicagens e a taxa de proliferação. Esses aspectos, contudo, devem estar associados a uma estratégia visando à eliminação ou redução, em níveis aceitáveis, da ocorrência de variantes somaclonais. Embora não existam resultados conclusivos sobre a fidelidade genotípica de mudas

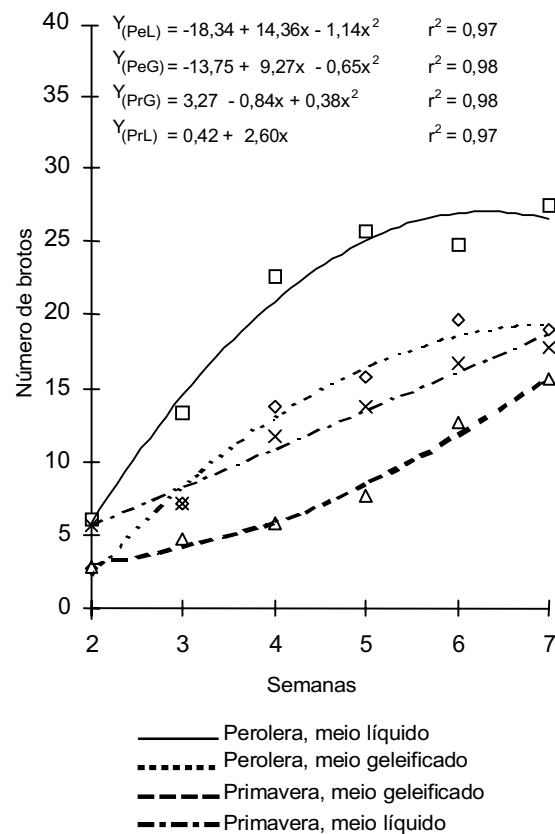


FIG. 1. Taxa média de regeneração *in vitro* (brotos/explante) em função do tempo, para duas cultivares de abacaxizeiro: Perolera (Pe) e Primavera (Pr), cultivadas em meio de cultura MS geleificado (G) e líquido (L). LFDGV/CCA/UFSC, 1996.

micropropagadas de abacaxizeiro, é conveniente lembrar que cultura de gemas axilares é considerada como a técnica mais segura sob o aspecto da manutenção da conformidade clonal (George, 1993).

A análise da variância revelou a existência de diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) dentro de cada um dos três fatores testados para a taxa de regeneração de brotos (Tabela 1). O coeficiente de variação de 15,4% indica que houve um controle adequado das condições experimentais. A cultivar Perolera produziu, em média, um número maior de brotos/explante do que a cultivar Primavera (Tabela 2), sugerindo a existência de diferenças genótípicas na resposta à indução morfogenética *in vitro*. A implicação disto para propósitos de micropropagação relaciona-se com necessidade de serem desenvolvidos protocolos regenerativos específicos para cada variedade. Variações na taxa de regeneração atribuídas a diferentes genótipos também são citadas para outras espécies micropropagadas, como é o caso da bananeira (Mendes et al., 1996).

No meio líquido observou-se uma taxa de regeneração de 14,1 brotos/explante, portanto superior à taxa verificada em meio geleificado, que foi de 9,8 brotos/explante. Das seis diferentes combina-

ções de níveis dos dois fitorreguladores utilizados, a associação entre o ANA (2,7  $\mu\text{M}$ ) e o BAP (4,4  $\mu\text{M}$ ) proporcionou a maior taxa de regeneração (15,7 brotos/explante). A taxa média geral de regeneração foi de 12 brotos/explante (Tabela 2).

A análise da variância revelou ainda que as interações simples entre os fatores apresentaram significância estatística ( $P < 0,05$ ). Assim, as diferentes cultivares utilizadas responderam de maneira diferente tanto à constituição física do meio de cultura, quanto à combinação de fitorreguladores (Tabela 1). A interação genótipos x natureza física dos meios de cultura pode ser demonstrada pela cultivar Perolera, que em meio de cultura líquido (Tabela 3) apresentou uma taxa média de regeneração de 18,2 brotos/explante, valor significativamente superior aos demais tratamentos. No entanto, a taxa de regeneração da cultivar Primavera em meio geleificado alcançou 8,2 brotos/explantes, valor estatisticamente inferior aos demais tratamentos (Tabela 3). Esses resultados sugerem que diferentes genótipos podem apresentar taxas de proliferação diferenciadas em relação ao uso de meio líquido ou geleificado.

A Tabela 2 apresenta o efeito das diferentes combinações dos fitorreguladores ANA e BAP sobre a

**TABELA 1. Análise de variância para a taxa de regeneração *in vitro* (brotos/explante), na quinta semana após a inoculação, de duas cultivares (Perolera e Primavera) de abacaxizeiro, cultivadas em meio de cultura MS líquido e geleificado, suplementado com ANA (2,7 e 5,4  $\mu\text{M}$ ) e BAP (4,4, 8,9 e 13,3  $\mu\text{M}$ ). CV=15,4%. LFDGV/CCA/UFSC, 1996.**

Causa de variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos:				
A: Cultivares	1	401,363	401,363	118,586**
B: Constituições físicas do meio	1	215,901	215,901	63,789**
C: Fitorreguladores	5	291,122	58,224	17,203**
Interações				
AxB	1	79,053	79,053	23,357**
AxC	5	91,654	18,330	5,416**
BxC	5	59,167	11,833	3,496*
AxBxC	5	32,629	6,526	1,928 <sup>ns</sup>
Resíduo	24	81,230	3,384	

<sup>ns</sup>, \* e \*\* Não-significativo e significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

**TABELA 2.** Taxa média de regeneração *in vitro* (brotos/explante)<sup>1</sup> de duas cultivares (Perolera e Primavera) de abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L) Merr.), cultivadas em meio MS líquido e geleificado, suplementado com ANA (2,7 e 5,4 µM) e BAP (4,4, 8,9 e 13,3 µM), cinco semanas após a inoculação. LFDGV/CCA/UFSC, 1996.

Fitorreguladores (µM)	Cultivares		Meio		Média
	Perolera	Primavera	Líquido	Geleificado	
ANA(2,7) + BAP(4,4)	20,8a	10,6de	19,7a	11,7cd	15,7a
ANA(2,7) + BAP(8,9)	15,0bc	9,7de	13,8bc	10,9cde	12,4b
ANA(2,7) + BAP(13,3)	15,8b	8,0e	13,3bc	10,5cde	11,9b
ANA(5,4) + BAP (4,4)	12,6cd	9,2de	13,8bc	8,0de	10,9b
ANA(5,4) + BAP(8,9)	16,4b	10,1de	15,7b	10,9cde	13,3b
ANA(5,4) + BAP(13,3)	8,4e	6,7e	8,2de	7,0e	7,6c
Médias	14,8A	9,1B	14,1A	9,8B	12,0

<sup>1</sup> Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, dentro de um mesmo fator, não diferem estatisticamente entre si segundo teste SNK (5%).

**TABELA 3.** Taxa média de regeneração *in vitro* (brotos/explante)<sup>1</sup> de duas cultivares (Perolera e Primavera) de abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merr.) cultivadas em meio de cultura MS líquido e geleificado, cinco semanas após a inoculação. LFDGV/CCA/UFSC, 1996.

Cultivares	Meio	
	Líquido	Geleificado
Perolera	18,2a	11,4b
Primavera	9,9b	8,2c

<sup>1</sup> Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si segundo teste SNK (5%).

taxa de regeneração de brotos das duas cultivares utilizadas. Os maiores valores em relação a essa variável resultaram da suplementação ao meio de cultura com ANA (2,7 µM) e BAP (4,4 µM), que proporcionaram a produção de 20,8 brotos/explante na cultivar Perolera, valor significativamente superior às demais combinações de cultivares e fitorreguladores. As diferentes combinações de fitorreguladores exerceram influência determinante na taxa de regeneração, uma vez que as diferenças entre os níveis testados alcançaram 1,6 e 2,5 vezes nas cultivares Primavera e Perolera, respectivamente.

Levando-se em consideração a constituição física do meio de cultura e os tipos e níveis de fitorreguladores (Tabela 2), observou-se também que o melhor tratamento no meio de cultura líquido (19,7 brotos/explante) resultou da associação entre o ANA (2,7 µM) e o BAP (4,4 µM), enquanto a mesma combinação de fitorreguladores em meio de cultura geleificado resultou em uma taxa média de regeneração de 11,7, cuja diferença entre ambos é estatisticamente significativa. As taxas de regeneração *in vitro* reportadas para o abacaxizeiro por outros autores variaram de 4 a 10, valores inferiores aos obtidos no presente trabalho. Pescador & Koller (1992) obtiveram uma taxa média de regeneração de 9,4 para a variedade Pérola cultivada em meio de cultura MS geleificado, contendo ANA (10,7 µM) e BAP (13,3 µM). A formação de gemas múltiplas na cultivar Smooth Cayenne também foi induzida em meio de cultura MS líquido, suplementado com ANA (9,7 µM), ácido indolacético (AIA) (11,4 µM) e BAP (9,3 µM) (Cabral et al., 1984). Rangan (1984) sugeriu a utilização de um protocolo regenerativo geral, baseado na formação de brotações múltiplas a partir de gemas laterais, em meio de cultura MS líquido suplementado com ANA (9,7 µM), ácido indolbutírico (AIB) (9,8 µM) e cinetina (9,8 µM). Neste trabalho, as raízes foram induzidas em meio MS suplementado com ANA (0,96 µM) e

AIB (1,96  $\mu\text{M}$ ). Além da diferença nos tipos e concentrações de fitorreguladores empregados no protocolo de Rangan (1984) e aqueles propostos no presente trabalho, este último dispensa a necessidade de um estágio de enraizamento *in vitro* das brotações e, conseqüentemente, elimina a necessidade de repicagem para um meio de cultura específico para este estágio. Tal aspecto favorece uma maior rapidez, eficiência e uma redução no custo de produção das mudas micropropagadas.

Uma nova técnica para a micropropagação do abacaxizeiro foi proposta por Kiss et al. (1995) para as cultivares Cayenne Oriental e Española Roja. Brotações estioladas foram obtidas pela incubação no escuro de brotações decapitadas, as quais foram cultivadas em meio MS suplementado com ANA (10  $\mu\text{M}$ ). Tais brotações foram posteriormente inoculadas em meio de cultura N6, suplementado com cinetina (25  $\mu\text{M}$ ) ou BAP (20  $\mu\text{M}$ ), obtendo-se 15 e 13 brotações, respectivamente, para cada segmento nodal do explante estiolado. Esses valores foram inferiores aos obtidos com os melhores tratamentos neste trabalho.

#### Eficiência do protocolo

No presente trabalho, o melhor tratamento empregado para a micropropagação das cultivares Perolera e Primavera foi o meio MS líquido suplementado com os fitorreguladores ANA (2,7  $\mu\text{M}$ ) e BAP (4,4  $\mu\text{M}$ ). Este protocolo foi então empregado para a micropropagação de 17 acessos, pertencentes a quatro grupos varietais (Amarelinho, Amarelo, Pérola e Smooth Cayenne). A indução de proliferação de gemas múltiplas ocorreu já aos sete dias após a inoculação para todos os acessos. Repicagens sucessivas para frascos de cultura contendo 30 mL de meio líquido, com a mesma composição do meio de indução, proporcionaram rápida multiplicação e alongamento, observando-se valores médios de 15,3 brotos/explantes na quinta semana após a inoculação (Fig. 2), dos quais 40% apresentaram altura igual ou inferior a 3 cm. A exemplo do que foi observado no experimento 1, os diversos genótipos apresentaram diferentes taxas de regeneração como resposta ao mesmo protocolo (Fig. 2). Dos acessos testados, três reproduziram os mesmos resultados apresentados pela cultivar Perolera no

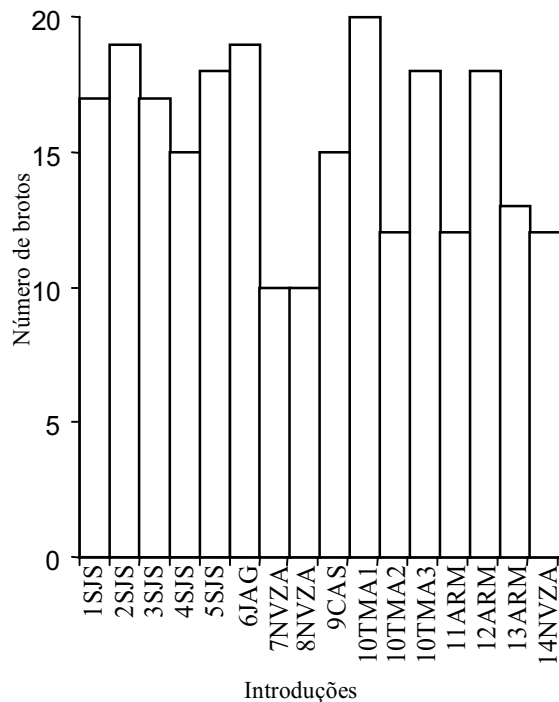


FIG. 2. Taxa média de regeneração *in vitro* (brotos/explante) de dezesseis introduções de abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L) Merr.), em resposta ao meio de cultura MS líquido suplementado com ANA (2,7  $\mu\text{M}$ ) e BAP (4,4  $\mu\text{M}$ ), cinco semanas após a inoculação. LFDGV/CCA/ UFSC, 1996.

experimento 1. Além disso, outros oito acessos produziram um número de brotos/explante maior que a média geral do experimento 1. Quando essas plântulas micropropagadas foram submetidas à aclimação, observou-se uma taxa média de sobrevivência de 95,5% aos 30 dias após a transferência. A repetibilidade dos resultados obtidos com a micropropagação dos acessos testados demonstrou a eficiência e aplicabilidade deste protocolo para a micropropagação de mudas de abacaxizeiro.

#### CONCLUSÕES

1. A micropropagação do abacaxizeiro com gemas axilares em meio de cultura MS líquido

suplementado com ANA (2,7  $\mu$ M) e BAP (4,4  $\mu$ M), com repicagens em intervalos de 35 dias e a aclimação das plântulas, com altura mínima de 3 cm, inicialmente em fitotron e após 10 dias em câmara de nebulização, constitui-se um protocolo adequado para a produção de mudas.

2. Este protocolo demonstra ser eficiente para a micropropagação de outros genótipos de uma coleção de germoplasma de abacaxizeiros coletados em Santa Catarina.

3. A taxa de regeneração *in vitro* de brotações axilares é variável de acordo com o genótipo.

### REFERÊNCIAS

- AGHION, D.; BEAUCHESNE, G. Utilization de la technique de culture sterile d'organes pour des clones d'*Ananas*. **Fruits**, v.15, n.10, p.444-446, 1960.
- CABRAL, J.R.S.; CUNHA, G.A.P.; RODRIGUES, E.M. Micropropagação do abacaxizeiro. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 5., 1983, Florianópolis. **Anais**. Florianópolis: SBF, 1984. v.1, p.124-127.
- CABRAL, J.R.S.; MATOS, A.P. **Recomendações de cultivares resistentes a fusariose**. Cruz das Almas: Embrapa-CNPMPF, 1986. 4p. (Embrapa-CNPMPF. Comunicado técnico, 11).
- COUTO, F.A.; RAMO, V.H.V.; TANAK, M.A.S. Comparações entre métodos para identificar muda de abacaxizeiro portadores de fusariose. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 5., 1983, Florianópolis. **Anais**. Florianópolis: SBF, 1984. p.86-96.
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. Part 1. The Technology. Edington: Exegetics, 1993. 574p.
- GIACOMELLI, E.J.; TEÓFILO SOBRINHO, J. Seleção preliminar de algumas cultivares de abacaxizeiro resistente à fusariose. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 5., 1983, Florianópolis. **Anais**. Florianópolis: SBF, 1984. p.145-161.
- KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, G.; HESZKY, L.E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, v.30, n.1, p.127-129, 1995.
- KOLLER, O.L. **O cultivo do abacaxi em Santa Catarina**. Florianópolis: EMPASC, 1981. 20p. (Boletim técnico, 9).
- MENDES, B.M.J.; MENDES, F.J.; TULMANN NETO, A.; DEMETRIO, C.G.B.; PUSKE, O.R. Efficacy of banana plantlet production by micropropagation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.12, p.863-867, dez. 1996.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- PESCADOR, R.; KOLLER, O.C. Propagação *in vitro* do abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merr.) cv. Pérola. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.14, n.2, p.1-4, 1992.
- RANGAN, T.S. Pineapple. In: AMMIRATO, P.V.; EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; YAMADA, Y. (Eds.). **Handbook of plant cell culture**. New York: Macmillan, 1984. v.3, p.373-382.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics - A biometrical approach**. 2.ed. New York: McGraw-Hill Book, 1980. 633p.
- VAZ, R.L.; NOGUEROLES, J. Micropropagação e influência do tempo de permanência em meio contendo floroglucinol no enraizamento de brotos apicais de pessegueiro e macieira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 12., 1981, Recife. **Anais**. Recife: SBF, 1981. p.1160-1165.