

42

Circular
TécnicaFortaleza, CE
Outubro, 2012

Autores

Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho
Bióloga, D.Sc. em Genética,
pesquisadora da Embrapa
Agroindústria Tropical,
Fortaleza, CE,
cristina.carvalho@embrapa.br

Marcos Vinicius Marques Pinheiro
Engenheiro-agrônomo, M.Sc. em
Fisiologia Vegetal, doutorando em
Botânica pela Universidade Federal
de Viçosa, Viçosa, MG, macvini@
gmail.com

Gabrielen de Maria Gomes Dias
Engenheira-agrônoma, M.Sc. em
Fitotecnia, doutorando em Fitotecnia
pela Universidade Federal de Lavras,
Lavras, MG, gabriellen@gmail.com

João Paulo Saraiva Morais
Farmacêutico, M.Sc. em Bioquímica
Vegetal, pesquisador da Embrapa
Algodão, Campina Grande, PB,
joao.morais@embrapa.br

Estiolamento In Vitro de Plantas: Alternativa para a Produção de Mudas Micropropagadas de Abacaxizeiro Ornamental

Introdução

A busca por novas espécies ornamentais tropicais tem crescido muito nos últimos anos, principalmente aquelas marcadas pela originalidade, beleza e durabilidade, como os abacaxizeiros ornamentais. Diante dessa oportunidade, eles surgem como alternativas para um mercado em expansão, podendo proporcionar plantas de efeito paisagístico diferenciado para compor jardins e parques. Os abacaxizeiros ornamentais podem ainda ser comercializados em vaso ou como flores, folhagens e minifrutos de corte (SOUZA et al., 2004).

Atualmente, o Brasil é o único país com cultivos comerciais dessa espécie. Os plantios são prioritariamente voltados para atender ao mercado externo e se concentram no Nordeste, principalmente nos estados do Ceará (Figura 1A; 1B) e Rio Grande do Norte (SOUZA et al., 2012).

Em 2003, Coppens D'Eeckenbrugge e Leal (2003) propuseram uma nova classificação, mais simples e consistente, do gênero *Ananas*. Os autores levaram em consideração as características morfológicas, bioquímicas e moleculares, além da distribuição geográfica e da biologia reprodutiva. Os abacaxizeiros ornamentais *Ananas lucidus* Miller, *A. bracteatus* (Lindley) Schutte f. e *A. nanus* (L.B. Smith) L.B. Smith, nessa nova classificação, passaram a ser denominados respectivamente de: *Ananas comosus* var. *erectifolius* (L.B. Smith) Coppens & Leal, *A. comosus* var. *bracteatus* (Lindl.) Coppens & Leal e *A. comosus* var. *ananassoïdes* (Baker) Coppens & Leal.

As principais variedades de abacaxi ornamental comercializadas são *A. comosus* var. *erectifolius* (Figura 1-C), *A. comosus* var. *bracteatus* (Figura 1-D) e *A. comosus* var. *ananassoïdes* (Figura 1-E), sendo a primeira de maior expressão.

A espécie *A. comosus* var. *erectifolius* tem origem na região amazônica, recebendo o nome de curauá, e apresenta frutos geralmente com coroas múltiplas, polpa branca e bastante fibrosa (GIACOMELLI; PY, 1981). Caracteriza-se por ser terrestre e desenvolver-se em campo aberto sob elevada luminosidade e em ambientes de solos arenosos e de clima tropical. As folhas são rígidas, espessas, eretas, com aproximadamente 1 m de comprimento e 3,5 cm de largura, apresentando coloração púrpura e ausência de espinhos, exceto por um forte acúleo no ápice (BORGES et al., 2003). A inflorescência possui brácteas florais pequenas e lisas, localizadas na posição distal de uma haste de até 80 cm de comprimento. A infrutescência é reta, de coloração vermelha, com tamanho entre 8 cm e 10 cm, além da coroa, que é relativamente grande (Figura 1-C) (BORGES et al., 2003).

O *A. comosus* var. *bracteatus* é conhecido vulgarmente como ananás-do-mato e pode ser encontrado em matas de diferentes regiões do Brasil (CRESTANI et al., 2010). A planta é herbácea, perene, rizomatosa, com altura variando entre 50

cm e 60 cm (LORENZI; SOUZA, 1999). As folhas são largas, compridas, com espinhos afilados nas suas laterais, e as flores possuem brácteas longas serrilhadas cobrindo o ovário, geralmente vermelhas ou rosas (Figura 1-D) (GIACOMELLI; PY, 1981). Dentre as variedades mais cultivadas, destaca-se a tricolor com folhas variegadas e faixas longitudinais de cor branco-amarelada com matizes rosadas, o que confere a essa variedade grande potencial ornamental, sendo comercializada em todo o mundo (GIACOMELLI; PY, 1981).

À medida que o fruto se desenvolve, seus bordos começam a ficar rubros brilhantes. Sustentado por um pedúnculo com mais de 15 cm de comprimento, o fruto tem polpa amarela e grande presença de fibras (CRESTANI et al., 2010). Ele mede acima de 10 cm de comprimento, podendo chegar ao tamanho das

cultivares de abacaxizeiros comestíveis comerciais (CUNHA; CABRAL, 1999). Esse abacaxizeiro pode ser utilizado tanto como flor de corte, quanto no paisagismo, na forma de cerca viva de proteção, devido à presença de espinhos em suas folhas (COSTA; ZAFFARI, 2005).

O *A. comosus* var. *ananassoides* ocorre comumente em campos naturais e cerrados, recebendo o nome vulgar de ananás-do-campo (CRESTANI et al., 2010). Apesar de ser ainda pouco cultivado, destaca-se entre as demais variedades, dadas as suas características para flor de corte, tais como: frutos pequenos com coloração amarela creme até o rosa mais intenso e hastes longas retas ou sinuosas, que lhe conferem uma aparência especial, principalmente quando os frutos já estão totalmente formados (Figura 1-E) (SOUZA et al., 2007).

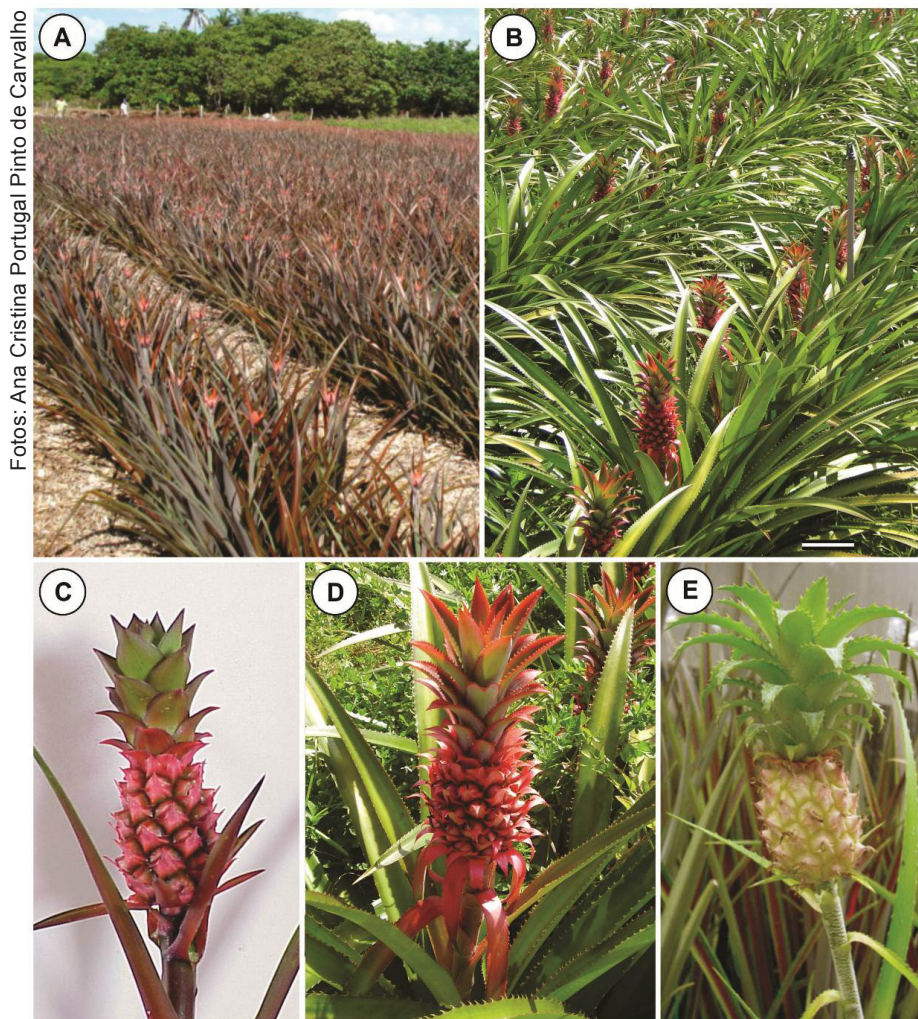


Figura 1. Plantios comerciais de abacaxizeiro ornamental *Ananas comosus* var. *erectifolius* (A) e *A. comosus* var. *bracteatus* (B), em Horizonte, CE. Infrutescências de abacaxizeiro ornamental *A. comosus* var. *erectifolius* (C), *A. comosus* var. *bracteatus* (D) e *A. comosus* var. *ananassoides* (E).

Propagação

O abacaxizeiro ornamental é propagado de forma similar à espécie comestível (*A. comosus* var. *comosus*), sendo a propagação assexuada ou vegetativa o método predominante no estabelecimento dos cultivos comerciais. Os propágulos são obtidos a partir de mudas formadas em diferentes partes da planta, tais como: coroa (brotação do ápice do fruto); filhote (brotação do pedúnculo); filhote rebentão (brotação da região da inserção do pedúnculo no caule); rebentão (brotação do caule aéreo ou subterrâneo) e mudas formadas em viveiro, a partir de gemas desenvolvidas em seções do caule ou por cultura de tecidos (REINHARDT; CUNHA, 1999). O êxito no cultivo, por meio do uso desses tipos de mudas, depende, entre outros fatores, da qualidade fitossanitária, que é um dos mais importantes pré-requisitos para obter-se elevada produtividade e frutos de excelente padrão de comercialização. A qualidade fitossanitária desses propágulos depende de diferentes fatores, como as condições ambientais e o próprio manejo dado à cultura. A utilização de mudas obtidas pelos métodos convencionais possibilita a disseminação de doenças, como a fusariose do abacaxi, e pragas, como a cochonilha, comprometendo os novos plantios e estendendo as áreas afetadas por esses problemas (SOUZA et al., 2009).

Além do risco da disseminação de pragas e doenças, a propagação do abacaxizeiro pelos métodos convencionais é extremamente lenta, demandando um longo período para a implantação de novas áreas de plantio ou para o lançamento de novas variedades. O perfilhamento do abacaxizeiro, principal fonte de mudas convencionais, depende da variedade e de outros fatores, como adubação e adensamento de plantio. Mesmo assim, as taxas de multiplicação comumente não superam nove filhotes por planta e ainda são gerados poucos rebentões, considerando-se que a coroa acompanha o fruto na comercialização (REINHARDT; CUNHA, 1999).

Dessa forma, estudos sobre a produção de mudas por cultura de tecidos são imprescindíveis, uma vez que a técnica proporciona a obtenção de milhares de plantas a partir de uma gema em pequeno intervalo de tempo e espaço, livres de pragas e doenças (ALBERT, 2004).

Micropropagação (Propagação in vitro)

O uso da micropropagação no processo de produção de mudas de abacaxizeiro comestível justifica-se pela elevada taxa de obtenção de propágulos, fixação de ganhos genéticos nas populações clonais, obtenção de mudas de alta qualidade quanto ao vigor e à uniformidade, ausência de pragas e doenças, obtenção de plantas com sistema radicular desenvolvido (GUERRA et al., 1999) e maior controle de produção, pois independe da época do ano e exige menor período de tempo (CORREIA et al., 1999c), além de permitir fácil armazenamento e transporte das mudas produzidas. Como desvantagem, destaca-se o elevado custo da muda em relação à obtida pelos métodos convencionais de propagação vegetativa, devido principalmente à necessidade de infraestrutura de laboratório, de telados (casas de vegetação ou estufas) para aclimatização e de mão de obra especializada (ESCALONA et al., 1999). Essas considerações também se aplicam para a produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental.

Para os plantios comerciais, o uso de mudas de cultura de tecidos de segunda geração é o mais recomendado, ou seja, a muda oriunda da micropropagação é adquirida para a formação de um matrizeiro de qualidade, visando à produção de material propagativo sadio e vigoroso para ser plantado no campo (SOUZA et al., 2012).

Vários trabalhos de pesquisa sobre a produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental vêm sendo realizados (CORREIA et al., 1999a, 1999b, 1999c, 1999d; BORGES, 2000; BORGES et al., 2003; CARVALHO et al., 2005; COSTA; ZAFFARI, 2005; BOMFIM, 2006; PEREIRA et al. 2006; BOMFIM et al., 2007a, 2007b; OLIVEIRA et al., 2007; AZEVEDO et al., 2008; DIAS et al., 2008; PASQUAL et al., 2008; SANTOS, 2008a, 2008b; SANTOS et al., 2008; SILVA et al., 2008; CARVALHO et al., 2009; CORREIA et al., 2009; QUIRINO et al., 2009; SOUZA et al., 2009; CORREIA et al., 2010; DIAS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2010; BOMFIM et al., 2011; CORREIA et al., 2011; DIAS et al., 2011a, 2011b; MOREIRA et al., 2011).

Na micropropagação do abacaxizeiro ornamental, alguns aspectos devem ser considerados, como o

tempo para obtenção das mudas e a possibilidade da obtenção de variantes somaclonais, ou seja, de plantas fora do padrão normal. De uma forma geral, o processo de micropropagação nessa espécie demanda maior tempo do que o observado em outras culturas (CARVALHO et al., 2009). Além disso, o surgimento de plantas com variações somaclonais pode comprometer todo o processo, incorrendo no grave erro de produzir materiais cuja identidade genética não corresponde à planta matriz (SOUZA et al., 2009). Sendo assim, a manutenção da identidade genotípica é indispensável para a propagação em larga escala de genótipos selecionados e de novas cultivares.

A utilização de mudas de abacaxizeiro ornamental produzidas em laboratórios ainda é restrita no Brasil, devido principalmente ao reduzido número de laboratórios, preço relativamente alto e por ser uma atividade relativamente recente. Além disso, o principal método utilizado atualmente consiste na produção de mudas a partir de gemas axilares (CORREIA et al., 1999a, 1999b, 1999c, 1999d; BORGES, 2000; BORGES et al., 2003; COSTA; ZAFARRI, 2005; PEREIRA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007; PASQUAL et al., 2008; SANTOS, 2008a, 2008b; SANTOS et al., 2008; SILVA et al., 2008; CORREIA et al., 2009; QUIRINO et al., 2009; SOUZA et al., 2009; CORREIA et al., 2010; DIAS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2010; CORREIA et al., 2011; MOREIRA et al., 2011). Segundo Grattapaglia e Machado (1998), nesse sistema, é comum ocorrerem simultaneamente a proliferação de gemas axilares e a formação de gemas adventícias na base do explante. Esses dois fenômenos dificilmente podem ser separados, pois ambos se devem aos efeitos da citocinina presente no meio de cultura sobre todo o tecido. Entretanto, esses autores ressaltam que, sob o aspecto de integridade clonal, as gemas adventícias são desejáveis como sistema de multiplicação, desde que a formação do calo seja mínima ou nula, visando reduzir a obtenção de variantes somaclonais entre as mudas produzidas. Ademais, esse sistema de micropropagação no abacaxizeiro comestível é normalmente mais demorado que em outras espécies, pois a produção de mudas para plantio não é alcançada antes de 9 a 12 meses depois do estabelecimento da cultura in vitro (MOREIRA et al., 2003). Esse obstáculo pode ser superado com novos estudos para reduzir o tempo de produção das mudas e diminuir a formação de gemas adventícias. Nesse sentido, Kiss et al.

(1995) propuseram um novo método de propagação rápida de abacaxizeiro, baseado no alongamento de brotos induzidos in vitro, por meio do estiolamento.

Micropropagação por estiolamento

O estiolamento é o desenvolvimento de brotos, ramos ou partes deles na ausência de luz, o que causa o crescimento dessas estruturas vegetais, geralmente alongado e com coloração amarela ou branca, em razão da ausência de clorofila (HARTMANN; KESTER, 1990). No escuro, os entrenós do talo da muda de abacaxizeiro se alongam, separando os nós, que, normalmente, sob presença de luz, permaneceriam próximos uns dos outros. Para fins de micropropagação, a separação dos nós facilita o desenvolvimento de gemas axilares e a manipulação das mudas regeneradas (BARBOZA; CALDAS, 2001). Além disso, por apresentar maior alongamento entre os entrenós, a micropropagação por estiolamento proporciona aumento na obtenção de brotos por explante (PRAXEDES et al., 2001).

Esse método, comparado com a propagação tradicional por gemas axilares, tem a vantagem de evitar lesões na zona de regeneração, minimizando a formação de calo e, conseqüentemente, proporcionando baixos níveis de variação somaclonal (KISS et al., 1995; SANTOS et al., 2009). A redução do risco na obtenção de variantes somaclonais é também devida às baixas concentrações de reguladores de crescimento que são necessárias para favorecer o estiolamento das hastes, e subsequente proliferação das plantas (SOUZA et al., 2009).

Os primeiros estudos sobre a produção de mudas de abacaxizeiro ornamental, por meio do estiolamento in vitro, foram desenvolvidos no Laboratório de Cultura de Tecidos e Genética Vegetal, da Embrapa Agroindústria Tropical (CARVALHO et al., 2005, 2009; DIAS et al., 2008). Segundo Carvalho et al. (2009), esse método possibilita uma redução do tempo necessário de produção de mudas de 9 meses para 6 meses e meio, resultando em economia de tempo e mão de obra, bem como diminuição da possibilidade de obter variantes somaclonais.

Metodologia

O estabelecimento in vitro das culturas deve ser efetuado por meio de gemas axilares presentes na coroa dos frutos.

Os materiais vegetais utilizados para o estiolamento devem ser explantes obtidos a partir de mudas estabelecidas in vitro, com altura de 2 cm a 3 cm (Figura 2-A). Essas mudas devem ter as folhas cortadas, reduzindo-se o tamanho para 1,5 cm e restando apenas o eixo caulinar envolvido pelas bases foliares, isto é, o talo (Figura 2-B).

Fotos: Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho

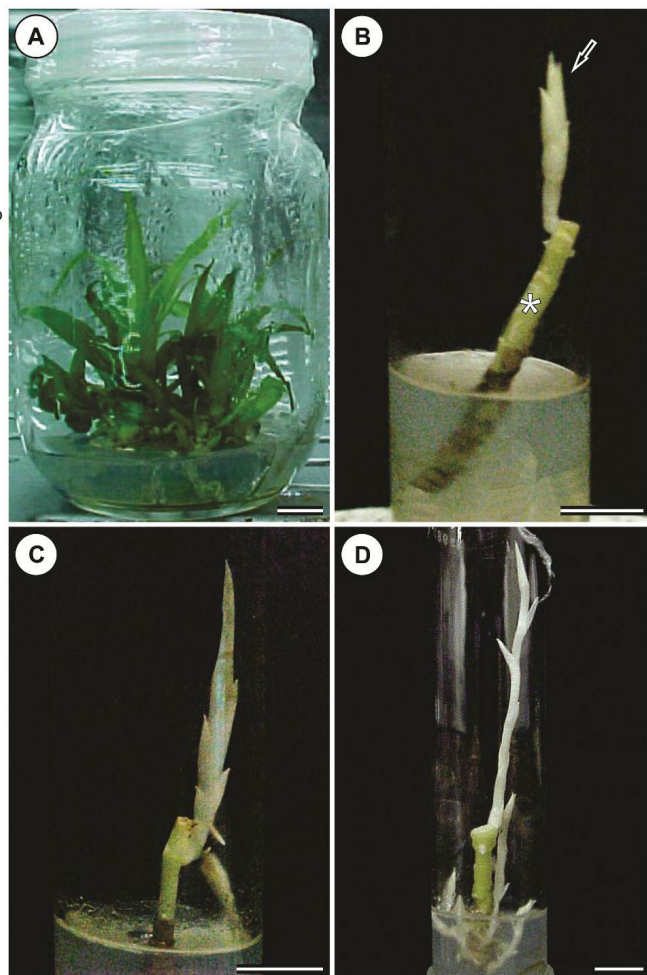


Figura 2. Estiolamento in vitro de abacaxizeiro ornamental (*Ananas comosus* var. *erectifolius*). (A) Mudanças de abacaxizeiro ornamental (*A. comosus* var. *erectifolius*) estabelecidas in vitro, em estágio de desenvolvimento adequado para serem utilizadas como fontes de explantes. (B) Explante de talo utilizado para a indução da fase de estiolamento in vitro, contendo a formação de um broto estiolado. (C) Detalhe das folhas formadas com coloração branca, sem a expansão dos limbos, quando submetidas ao estiolamento in vitro. (D) Brotos estiolados in vitro aos 60 dias de cultivo. Legendas: Seta - destaca o broto; asterisco - destaca o talo. Barras: 1 cm.

Etapa 1: Indução ao estiolamento

Nesta etapa, os talos (Figura 2-B) devem ser inoculados, sob condições de câmara de fluxo laminar, perpendicularmente, um por tubo de ensaio (150 mm x 25 mm), contendo 10,0 mL do meio de

cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) (Tabela 1), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e solidificado com ágar (Merck®) a 5,5 g L⁻¹. O pH do meio deve ser ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, que deve ser realizada a 121 °C, durante 15 minutos. As culturas devem ser mantidas, em sala de crescimento, com temperatura de 25±1 °C, permanecendo no escuro por 60 dias. A adição ou não de auxina ao meio de cultura depende da cultivar utilizada. Para as variedades *A. comosus* var. *ananassoides* e *A. comosus* var. *erectifolius*, recomenda-se a suplementação do meio de cultura com 10,0 µM (equivalente a 1,86 mg L⁻¹) de ácido α-naftalenoacético (ANA). Entretanto, para a variedade *A. comosus* var. *bracteatus*, essa adição não se faz necessária, ou seja, deve-se utilizar meio MS sem a adição de regulador de crescimento.

Tabela 1. Componentes do meio básico de Murashige e Skoog (1962) utilizado para a produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental.

Componente	Concentração final (mg L ⁻¹)
NH ₄ NO ₃	1.650
KNO ₃	1.900
KH ₂ PO ₄	170
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,20
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,30
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,60
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	37,25
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,85
Piridoxina HCl	0,50
Ácido nicotínico	0,50
Glicina	2
Tiamina HCl	0,10
Sacarose	30.000

Os valores médios obtidos para o número de brotos/explante, número de nós/broto, comprimento de brotos, distância entre os nós e número total de nós/explante podem oscilar de acordo com a variedade de abacaxizeiro ornamental (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios obtidos para número de brotos estiolados por explante, número de nós por broto, comprimento de brotos, distância entre os nós e número total de nós por explante dos abacaxis ornamentais *Ananas comosus* var. *erectifolius*, *A. comosus* var. *bracteatus* e *A. comosus* var. *ananassoides*, aos 60 dias de cultivo no escuro

Meio de cultura	Característica avaliada				
	Nº de brotos estiolados/explante	Nº de nós/broto	Comprimento de brotos (cm)	Distância entre os nós (cm)	Número total de nós/explante
MS + 10,0 µM ANA	<i>A. comosus</i> var. <i>erectifolius</i>				
	8,09	2,80	1,72	0,61	22,37
MS sem regulador de crescimento	<i>A. comosus</i> var. <i>bracteatus</i>				
	1,38	7,75	6,19	0,80	9,80
MS + 10,0 µM ANA	<i>A. comosus</i> var. <i>ananassoides</i>				
	3,42	3,51	2,67	0,73	11,25

O comprimento dos brotos estiolados é um atributo importante a ser considerado na micropropagação, pois está diretamente relacionado com o número de nós que serão recuperados em novas brotações, quando colocados em condições de luz. Na variedade *A. comosus* var. *bracteatus*, o pequeno número de brotos estiolados é compensado pelo seu comprimento significativo, resultando na obtenção de cerca de dez nós por explante (Tabela 2). Para essa variedade, o meio MS sem a adição de reguladores de crescimento é o mais adequado para estimular o crescimento dos brotos estiolados, ratificando que o estiolamento in vitro pode ser obtido sem a aplicação exógena de auxinas.

No escuro, as plantas se tornam estioladas, isto é, investem energia no alongamento rápido da parte aérea, não ocorrendo a expansão foliar nem a formação do sistema fotossintético funcional (GEORGE, 1993). Os brotos estiolados obtidos apresentam coloração branca, indicando ausência ou reduzida atividade fotossintética dos explantes. Além disso, as folhas formadas geralmente apresentam coloração branca, sem a expansão dos limbos (Figura 2-C). Barboza e Caldas (2001) relatam que, no escuro, os entrenós do talo de mudas de abacaxizeiro comestível se alongam, distanciando os nós, o que facilita o desenvolvimento das gemas axilares e a separação das mudas regeneradas. Ademais, além da maior separação entre os nós, o estiolamento também pode tornar as gemas preexistentes mais sensíveis às auxinas, aumentando, conseqüentemente, a frequência com que aquelas podem ser enraizadas (GEORGE, 1996).

No processo de micropropagação, o principal objetivo é o aumento da taxa de multiplicação, isto é, a obtenção de maior número de mudas ao final do processo, aliada à maior fidelidade genética possível. Nesse sentido, o meio mais adequado é o adicionado de 10,0 µM de ANA, que possibilita o maior número médio de nós por explante para as variedades *A. comosus* var. *erectifolius* (22,37) e *A. comosus* var. *ananassoides* (11,25). Para a variedade *A. comosus* var. *bracteatus* (9,80), recomenda-se esse mesmo meio, porém sem a adição de auxinas (Tabela 2).

Etapa 2: Regeneração dos brotos

Para a regeneração das mudas, devem ser utilizados, como explantes, os brotos estiolados in vitro, obtidos na etapa anterior, após 60 dias de cultivo (Figura 2-D). Esses brotos devem ser seccionados em segmentos contendo apenas dois nós, colocados horizontalmente, em frascos de vidro transparente com capacidade de 220 mL, contendo 30,0 mL de meio de cultura MS (Tabela 1). Em cada frasco, devem ser colocados quatro segmentos (Figura 3-A). Para as variedades *A. comosus* var. *erectifolius* e *A. comosus* var. *ananassoides*, recomenda-se a adição de 4,44 µM (equivalente a 1,0 mg L⁻¹) de 6-benzilaminopurina (BAP) ao meio de cultura. Já para o *A. comosus* var. *bracteatus*, a concentração dessa citocinina deve ser maior, de 13,32 µM (equivalente a 3,0 mg L⁻¹). Nessa etapa, as culturas devem ser mantidas em sala de crescimento com intensidade luminosa de 30 µmolm⁻²s⁻¹, a 25±1 °C, e fotoperíodo de 16 horas. Nessas condições, o tempo de regeneração dos brotos varia de 1 a 2 meses, dependendo da variedade utilizada.

Utilizando-se o estiolamento in vitro, pode-se estimar uma taxa de multiplicação de 17,25 e 9,45, ao final de 105 dias, para *A. comosus* var. *bracteatus* e *A. comosus* var. *ananassoides*, respectivamente. Se o tempo de permanência na etapa de regeneração de brotos aumentar de 45 para 60 dias, essas taxas sobem para 19,89 e 15,07, respectivamente.

Etapa 3: Alongamento e enraizamento dos brotos

Os brotos regenerados ao final da etapa anterior, com aproximadamente 2,0 cm de altura, devem ser transferidos, sob condições assépticas de câmara de fluxo laminar, para um novo meio de cultura. Os brotos devem ser individualizados e inoculados em frascos de vidro transparente, com capacidade de 220 mL contendo 30 mL de meio de cultura MS (Tabela 1). Em cada frasco, devem ser inoculados, em média, 6 brotos. A maioria das cultivares de abacaxizeiro comestível não necessita de nenhum tipo de regulador de crescimento para o processo de enraizamento, sendo que, em alguns casos, pode-se adicionar uma pequena concentração de auxina, como, por exemplo, 0,05 μM (equivalente a 0,01 mg L^{-1}) de ANA (SOUZA et al., 2009). Essa mesma metodologia pode ser aplicada para as variedades de abacaxizeiro ornamental. Para isso, as culturas devem ser mantidas em sala de crescimento com intensidade luminosa de 30 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, a 25 ± 1 °C, e fotoperíodo de 16 horas. Essa etapa tem duração de aproximadamente, 30 dias, sendo importante que as mudas obtidas apresentem entre 3,0 cm e 6,0 cm de altura e haja formação abundante de raízes (Figura 3-B) para que as plantas possam passar à etapa de aclimatização com maior garantia de sobrevivência.

Etapa 4: Aclimatização das mudas

Para etapa de aclimatização, as plantas devem apresentar entre 3,0 cm e 6,0 cm de altura, em torno de sete folhas e formação abundante de raízes (Figura 3-B). Essas mudas devem ser retiradas cuidadosamente dos frascos, suas raízes lavadas abundantemente com água corrente para retirar qualquer resíduo de meio de cultura, e, em seguida, devem ser podadas até aproximadamente 1,0 cm de comprimento (Figura 3-C). As plantas podem ser transferidas para tubetes (Figura 3-D) ou bandejas (Figura 3-E).

A etapa de aclimatização é um processo muito importante, na qual ocorre uma gradual adaptação das plantas a uma condição ambiental diferente daquela em que a planta vinha sendo mantida no laboratório. Um dos cuidados mais importantes a serem observados é manter uma boa condição de umidade, a fim de evitar uma rápida desidratação, que poderia acarretar a morte do material vegetal. Um procedimento inicial que deve ser considerado nesse processo é a eliminação de plantas com pouca chance de sobrevivência, como é o caso daquelas que apresentam hiperidricidade ou má formação (SOUZA et al., 2009).

O substrato pode ser muito variável, mas deve apresentar como principais características uma baixa densidade (ser leve), boa retenção de umidade e adequada aeração. Para tanto, podem ser utilizadas misturas de diferentes ingredientes, como: vermiculita, turfa, casca de pinus, casca de eucalipto, casca de arroz carbonizada, pó de fibra de coco, esterco e compostos orgânicos diversos, bem como substratos comerciais disponíveis no mercado (SOUZA et al., 2009).

Para os abacaxizeiros ornamentais, recomenda-se o uso de substrato formado pela combinação de pó de coco seco com vermicomposto (húmus de minhoca), na proporção de 3:1 (BOMFIM, 2006). As mudas devem ser mantidas em recipientes como tubetes de 180 cm^3 e irrigadas por microaspersão. As plantas desenvolvidas sob essas condições, após 3 meses, apresentam enraizamento adequado (Figura 3-F), 16 folhas e 8,5 cm de diâmetro da roseta, em média (Figura 3-G). Correia et al. (2009) recomendam a utilização de substrato composto com casca de arroz carbonizada (50%), vermiculita fina (30%) e vermicomposto (20%), suplementado com adubo de liberação lenta Polyon® (14:14:14). Os mesmos autores sugerem que, caso não haja disponibilidade, a vermiculita pode ser substituída, na mesma proporção, pelo substrato comercial Plantagro®.

Durante o período de aclimatização, as mudas também podem receber adubações foliares com solução nutritiva. Uma recomendação seria o próprio meio de cultura MS, em concentração diluída a 25%, podendo ser realizada quinzenalmente, afim de promover um incremento na taxa de crescimento das plantas, utilizando-se, em cada aplicação, 1,6 mL de solução por muda (BOMFIM, 2006).

O tempo de aclimatização e desenvolvimento da muda até o ponto de ir a campo pode se estender por 5 meses, e dependerá de uma série de fatores, dos quais o de maior importância é a variedade (SOUZA et al., 2009). No Nordeste brasileiro, plantas de abacaxizeiro ornamental podem ser aclimatizadas em telados com retenção de intensidade luminosa entre 50% e 70%, temperatura média de 28 °C e irrigação por microaspersores quando necessário, por um período de 4 meses (CORREIA et al., 2011). A irrigação pode ser realizada com lâminas

de 1,0 mm dia⁻¹ até os 52 dias após o transplântio (DAT), de 2,0 mm dia⁻¹ até os 83 DAT e de 4,0 mm dia⁻¹ até os 97 DAT, aplicada com uma frequência de duas vezes ao dia (BOMFIM, 2006).

Um especial cuidado, que deve ser tomado na aclimatização do abacaxizeiro, é evitar o contato do substrato com o centro da muda, região denominada de “olho”. Segundo Souza et al. (2009), isso pode acarretar a morte da muda.

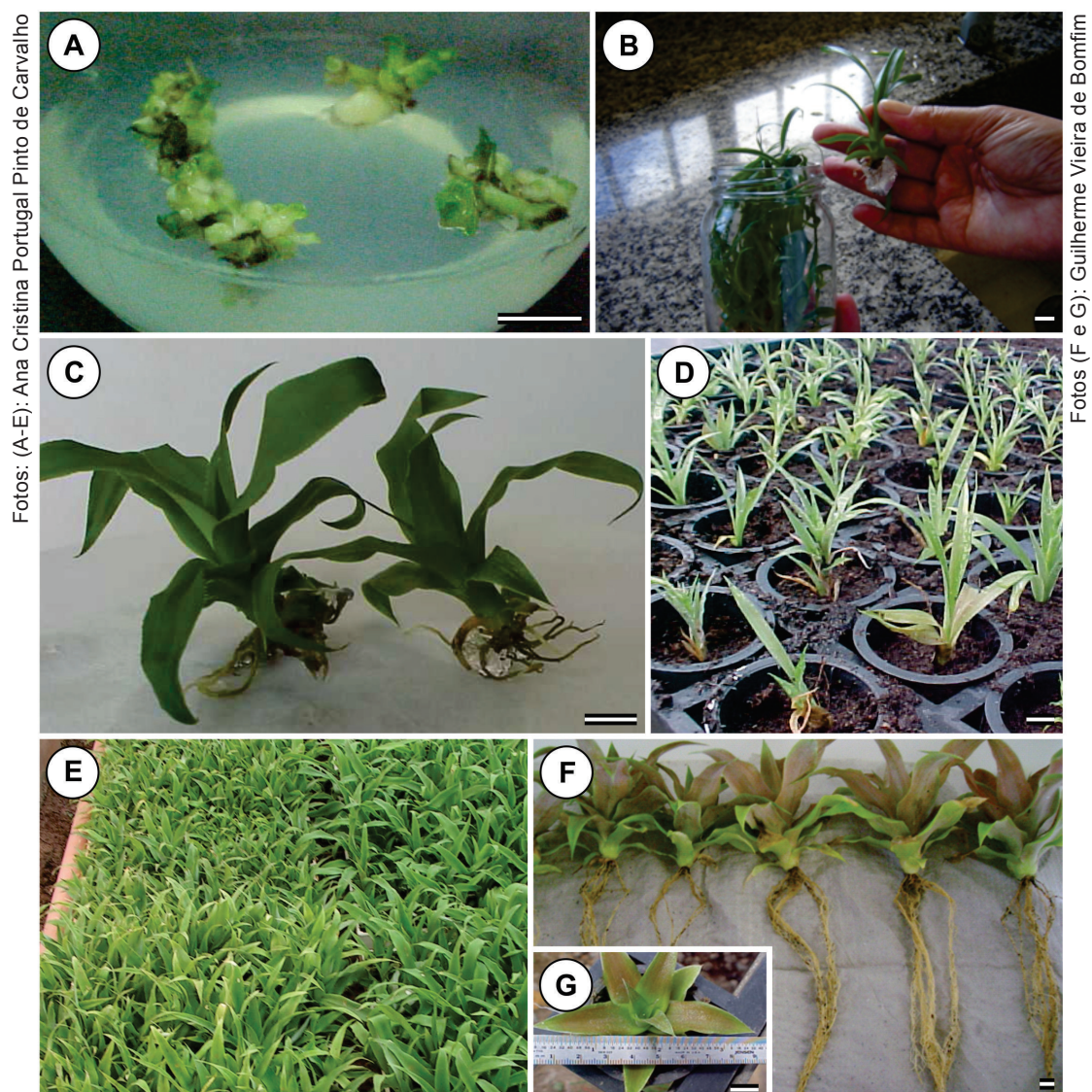


Figura 3. Mudanças micropropagadas de abacaxizeiro ornamental (*Ananas comosus* var. *erectifolius*). (A) Brotos em segmentos contendo dois nós, colocados horizontalmente, em frascos de 220 mL. (B) Mudanças apresentando entre 3 cm e 6 cm de altura e com formação abundante de raízes, em estágio de desenvolvimento adequado para serem aclimatizadas. (C) Mudanças com as raízes podadas até aproximadamente 1,0 cm de comprimento, prontas para serem transferidas para fase de aclimatização em bandejas ou em recipientes do tipo tubete. (D) Mudanças sendo aclimatizadas em tubetes, após 60 dias de aclimatização. (E) Mudanças sendo aclimatizadas em bandejas, após 90 dias de transplântio, sob irrigação por microaspersão. (F) Mudanças apresentando, em média, 16 folhas e 8,5 cm de diâmetro da roseta, após 3 meses de aclimatização. (G) Medida do tamanho da roseta das mudas micropropagadas após a aclimatização. Barras: 1 cm.

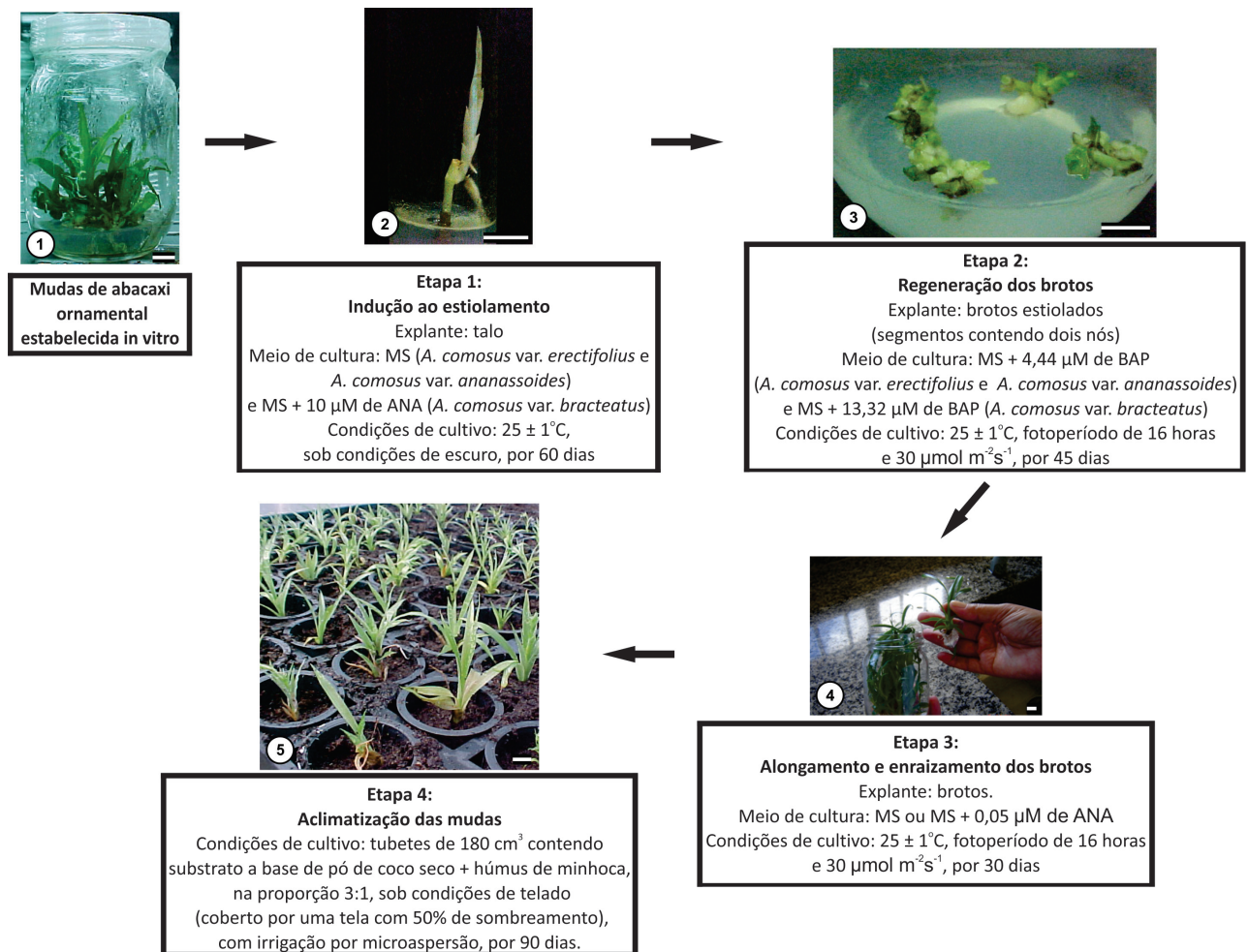


Figura 4. Esquema ilustrativo e resumido das etapas da produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental, pelo método de estiolamento in vitro e regeneração das plantas. Barras: 1,0 cm.

Considerações

O sistema de micropropagação de abacaxizeiro ornamental utilizado atualmente, por meio da proliferação de gemas axilares, envolve três etapas, com durações específicas. São elas:

a) estabelecimento in vitro das gemas axilares oriundas da coroa – 2 meses; b) multiplicação por meio de subcultivos sucessivos – 6 meses; c) alongamento e enraizamento – 1 mês. Portanto, nesse sistema, as mudas obtidas estarão prontas para serem acclimatizadas após 9 meses de cultivo in vitro. O método proposto de estiolamento e regeneração (Figura 4) envolve quatro etapas, com períodos de duração específicos: a) estabelecimento in vitro das gemas axilares oriundas da coroa – 2 meses; b) estiolamento – 2 meses; c) regeneração das brotações – 1 mês e meio; d) alongamento e enraizamento – 1 mês. Sendo assim, no sistema proposto, as mudas micropropagadas poderão ser acclimatizadas após 6 meses e meio a partir da introdução in vitro.

Em relação à quantidade de mudas produzidas nos dois sistemas, em *A. comosus* var. *erectifolius*, pelo método convencional, Braga et al. (2003) registraram taxas de multiplicação de 3,1, após um mês de cultivo in vitro, enquanto, pelo método proposto, pode-se estimar a produção de 58,1 mudas, ao final de 3 meses e meio.

Portanto, a metodologia apresentada resulta em aumento significativo do número de mudas obtido, economia em tempo e mão de obra, e, conseqüentemente redução dos custos de produção.

Referências

- ALBERT, L. H. de B. **Aspectos morfo-anatômicos de mudas de abacaxizeiro 'Smooth Cayenne' micropropagadas.** 2004. 54 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- AZEVEDO, B. M. de; BOMFIM, G. V. do; CARVALHO, A. C. P. de; GONDIM, R. S. VIANA, T. V. de A. Acclimatização ex vitro

de abacaxizeiro ornamental com diferentes lâminas de irrigação. **Irriga**, Botucatu, v. 13, n. 3, p. 298-309, 2008.

BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S. Estiolamento e regeneração na multiplicação in vitro de abacaxizeiro híbrido PE x SC-52. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 36, n. 3, p. 417-423, 2001.

BRAGA, E. P.; MORAIS, J. P. S.; CARVALHO, A. C. P. P.; SANTOS, M. R. A. Avaliação dos efeitos do número de explantes, do meio de cultura e do fotoperíodo na multiplicação in vitro de abacaxi ornamental (*Ananas lucidus* Miller). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14, CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 1., 2003, Lavras, **Anais ...** Lavras: UFLA. p. 313.

BOMFIM, G. V. do. **Efeitos de lâminas e frequências de irrigação e de tipos e volumes de substrato na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental**. 2006. 166 f. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

BOMFIM, G. V. do; CARVALHO, A. C. P. P. de; BEZERRA, F. C.; AZEVEDO, B. M. de; VIANA, T. V. de A.; OLIVEIRA, K. M. A. S. Aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental em diferentes volumes de substrato. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 121-128, 2007a.

BOMFIM, G. V. do; CARVALHO, A. C. P. P. de; BEZERRA, F. C.; AZEVEDO, B. M. de; VIANA, T. V. de A.; OLIVEIRA, K. M. A. S. Aclimatização ex vitro de abacaxizeiro ornamental em substrato à base de pó-de-coco. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 3, n.1, p. 41-48, 2007b.

BOMFIM, G. V. do; AZEVEDO, B. M. de; VIANA, T. V. de A.; FURLAN, R. A. CARVALHO, A. C. P. P. de. Aclimatização ex vitro de abacaxizeiro ornamental com diferentes frequências de irrigação. **Irriga**, Botucatu, v. 16, n.1, p. 104-114, 2011.

BORGES, N. S. S. **Influência da adição de meio de cultura líquido no crescimento e desenvolvimento de gemas de abacaxi ornamental (*Ananas lucidus* Miller) in vitro**. 2000. 44 f. Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

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. de; BRAGA, E. P.; SANTOS, M. R. A. dos; MORAIS, J. P. S. Micropropagação de abacaxi ornamental (*Ananas comosus* var. *bracteatus*) através da indução ao estiolamento e regeneração de plantas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 11, n.2, p. 121-126, 2005.

CARVALHO, A. C. P. P. de; PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. de M. G.; MORAIS, J. P. S. Multiplicação in vitro de abacaxi ornamental por estiolamento e regeneração de brotações. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n.1, p. 103-108, 2009.

COPPENS D'ECKENBRUGGE, G.; LEAL, F. Morphology, anatomy and taxonomy. In: BARTHOLOMEW, D. P.; PAULL, R. E.; ROHRBACH, K. G. (Ed.). **The pineapple: botany, production and uses**. New York: CAB International, 2003. p. 13-32.

CORREIA, D.; BORGES, N. S. S.; RIBEIRO, E. M.; MORAIS, J. P. S. de. **Produção de mudas in vitro e indução floral de abacaxizeiro ornamental**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 24p. il. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 134).

CORREIA, D.; BORGES, N. S. S.; SILVEIRA, M. R. S. da. **Avaliação do crescimento in vitro de brotos de abacaxi ornamental (*Ananas lucidus* Miller) em meio de cultura bifásico**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 1999a, 2 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Pesquisa em andamento, 59).

CORREIA, D.; OLIVEIRA, P. M. A. ; RIBEIRO, K. A.; ROSSETTI, A. G.; SILVEIRA, M. R. S. da. **Influência do meio de cultura sólido e líquido no alongamento de brotos in vitro de abacaxi ornamental (*Ananas lucidus* Miller)**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 1999b, 3 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Pesquisa em andamento, 57).

CORREIA, D.; OLIVEIRA, P. M. A. de; RIBEIRO, K. A.; SILVEIRA, M. R. S. da. **Avaliação da multiplicação in vitro do abacaxi ornamental (*Ananas lucidus* Miller)**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 1999c. 2 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Pesquisa em andamento, 56).

CORREIA, D.; RIBEIRO, K. A.; ROSSETTI, A. G.; SILVEIRA, M. R. S. da. **Efeito do ácido indol butírico e do carvão ativado no enraizamento in vitro de brotos de abacaxi ornamental (*Ananas lucidus* Miller)**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 1999d, 3 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Pesquisa em andamento, 66).

CORREIA, D.; ROCHA, M. V. P.; ALVEZ, G. C. Growth of micropropagated *Ananas comosus* var. *erectifolius* plantlets in different substrates under greenhouse conditions. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 822, p. 85-89, 2009.

CORREIA, D.; ROCHA, M. V. P.; ALVES, G. C.; MORAIS, J. P. S. **Produção de mudas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental em diferentes substratos na presença e ausência de fertilizante**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2010. 18 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 35).

COSTA, T.; ZAFFARI, G. R. Micropropagação de *Ananas bracteatus* (Shultz) cv. *estriatus* Hort. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 109-113, 2005.

CRESTANI, M.; BARBIERI, R. L.; HAWERROTH, F. J.; CARVALHO, F. I. F. de; OLIVEIRA, A. C. de. Das Américas para o mundo – origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 6, p. 1473-1483, 2010.

CUNHA, G. A. P. da; CABRAL, J. R. S. Taxonomia, espécies, cultivares e morfologia. In: CUNHA, G. A. P. da; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, L. F. da S. (Ed.). **O abacaxizeiro: cultivo, indústria e economia**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p. 17-51.

- DIAS, G. de M. G.; CARVALHO, A. C. P. P. de; PINHEIRO, M. V. M.; MORAIS, J. P. S. Micropropagação de abacaxi ornamental (*Ananas comosus* var. *ananassoides*) por estiolamento e regeneração de plântulas. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 4, n.1, p. 1-7, 2008.
- DIAS, M. M.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G.; SANTOS, V. A. dos; CUSTÓDIO, T. N.; COSTA, F. H. S. da. Enraizamento ex vitro e aclimatização de plantas micropropagadas de abacaxizeiro ornamental. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 4, n. 2, p. 29-33, 2010.
- DIAS, M. M.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G.; SANTOS, V. A. dos. Reguladores de crescimento na propagação in vitro de abacaxizeiro ornamental. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n.3, p. 383-390, 2011a.
- DIAS, M. M.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G.; SANTOS, V. A. dos; OLIVEIRA, A. C. de; RODRIGUES, V. A. Concentrações de reguladores vegetais no estiolamento in vitro de ananás do campo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 513-520, 2011b.
- 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**, Berlin, v. 18, n. 8, p. 743-748, 1999.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D. E. **Propagacion de plantas: principios y practicas**. México: Compañía Editorial Continental, 1990. 760 p.
- GEORGE, E. F. Factors affecting growth and morphogenesis. In: _____ (Ed.). **Plant propagation by tissue culture**. Edington: Exegetics 1993. p. 183-230.
- GEORGE, E. F. Rooting and establishment. In: _____ (Ed.). **Plant propagation by tissue culture**. Edington: Exegetics. 1996. p. 670-732.
- GIACOMELLI, E. J; PY, C. **O abacaxi no Brasil**. Campinas: Fundação Cargil, 1981. 101 p.
- GUERRA, M. P.; VESCO, L. L. D.; PESCADOR, R.; SCHUELTER, A. R.; NODARI, R. O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 9, p. 1557-1563, 1999.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica : Embrapa Hortaliças, 1998. v. 1, p. 183-260.
- KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, G.; HESZKY, L.E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **HortScience**, Alexandria, v. 30, n.1, p.127-129, 1995.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais do Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1999. 1088p.
- MOREIRA, C. M.; ANDRADE, H. B.; MONFORT, L. E. F.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; RIBEIRO, A. S. Indução de brotação in vitro em curauá: sistema de cultivo e concentrações de BAP. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, n. 2, S58-S66, 2011.
- MOREIRA, M. A.; PASQUAL, M.; CARVALHO, J. G. de, FRAGUAS, C. B. Estiolamento na micropropagação do abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 5, p. 1002-1006, 2003.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- OLIVEIRA, M. K. T. de; NETO, F. B.; CÂMARA, F. A. A.; NUNES, G. H. de S.; OLIVEIRA, F. de A. Propagação in vitro da cultura do abacaxizeiro ornamental (*Ananas lucidus* Miller). **Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 3, p. 167-171, 2007.
- OLIVEIRA, Y. de; ANSELMINI, J. I.; CUQUEL, F. L.; PINTO, F.; QUOIRIN, M. Pré-aclimatização in vitro de abacaxi ornamental. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, número especial, p.1647-1653, 2010.
- PASQUAL, M.; SANTOS, F. C.; FIGUEIREDO, M. A.; JUNQUEIRA, K. P.; REZENDE, J. C.; FERREIRA, E. A. Micropropagação do abacaxizeiro ornamental. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, n. 1, p. 45-49, 2008.
- PEREIRA, F. D.; PINTO, J. E. B. P.; RODRIGUES, H. C. de 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**, Lavras, v. 2, n. 2, p. 102-106, 2006.
- PRAXEDES, S. C.; SILVA JÚNIOR, A. F.; FIGUEIREDO, F. L. B.; FIGUEIREDO, M. L.; CÂMARA, F. A. A.; OLIVEIRA, O. F. Estiolamento in vitro do abacaxizeiro Pérola em presença de ANA e AIA. **Caatinga**, Mossoró, v. 14, n. 1/2, p. 3-15. 2001.
- QUIRINO, Z. B. R.; BARBOZA, S. B. S. C.; VIEGAS, P. R. A.; LEDO, A. S. **Multiplicação in vitro do abacaxizeiro ornamental, Ananas comosus var. erectifolius, em meio líquido e gelificado**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. 14p. il. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 40).
- REINHARDT, D. H. R. C.; CUNHA, G. A. P. da. Métodos de propagação. In: CUNHA, G. A. P. da; CABRAL, J. R. C.; SOUZA, L. F. da S. (Org.). **O abacaxizeiro: cultivo, agroindústria e economia**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p. 105-138.
- SANTOS, M. do D. M.; RIBEIRO, D. G.; TORRES, A. C. Brotações adventícias de abacaxizeiro ornamental sob efeito de benzilaminopurina, ácido naftalenoacético e períodos de subcultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 43, n. 9, p. 1115-1120, 2008.
- SANTOS, M. da C.; BARBOZA, S. B. S. C.; LÉDO, A. da S.; VIÉGAS, P. R. A.; COPATI, L. A. Efeito do estiolamento na micropropagação de abacaxi cultivar Imperial. **Plan Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 5, n. 2, p. 101-110, 2009.

SANTOS, M. do D. M. dos. **Micropropagação do abacaxizeiro ornamental [*Ananas comosus* var. *bracteatus* (Lindley) Coppens & Leal] e avaliação da fidelidade genotípica dos propágulos**. 2008a. 127 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade de Brasília, Brasília, DF.

SANTOS, M. T. **Micropropagação e viabilidade de regeneração de variedades silvestres de abacaxi conservadas in vitro**. 2008b. 51 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – Centro de Ciências Agrárias, Ambiental e Biológicas, Cruz das Almas, BA.

SILVA, K. J. D. e; SOUZA, V. A. B. de; GOMES, R. L. F. G. Efeito da altura de mudas na adaptação pós-cultivo in vitro de abacaxizeiro ornamental. *Ceres*, Viçosa, MG, v. 55, n. 6, p. 551-555, 2008.

SOUZA, F. V. D.; CARVALHO, A. C. P. P. de; SOUZA, E. H. de.

O abacaxi ornamental. In: PAIVA, P. D. de O.; ALMEIDA, E. F. A. C. (Ed.). **Produção de flores de corte**. Lavras: UFLA, 2012. p. 18-39.

SOUZA, F. V. D.; CABRAL, J. R. S.; SOUZA, E. H. de; SANTOS, O. S. N.; SANTOS-SEREJO, J. A. dos; FERREIRA, F. R.; SILVA, M. de J. da. **Abacaxi ornamental: uma riqueza a ser explorada**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. 2007. 2 p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Abacaxi em foco, 37).

SOUZA, F. V. D.; SEREJO, J. A. S.; CABRAL, J. R. S. Beleza rara. **Cultivar Hortaliças e Frutas**, v. 28, p. 6-8, 2004.

SOUZA, F. V. D.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; SOUZA, E. H.; JUNGHAS, T. G.; SILVA, M. J. Micropropagação do abacaxizeiro e outras bromeliáceas. In: JUNGHAS, T. G.; SOUZA, A. S. (Ed.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009, v. 1, p. 177-205.

Circular Técnica, 42

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria Tropical

Endereço: Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici

Fone: (0xx85) 3391-7100

Fax: (0xx85) 3391-7109 / 3391-7195

E-mail: negocios@cnpat.embrapa.br

1ª edição (2012): on-line

Comitê de Publicações

Presidente: Marlon Vagner Valentim Martins

Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama

Membros: José de Arimatéia Duarte de Freitas, Celli Rodrigues Muniz, Renato Manzini Bonfim, Rita de Cássia Costa Cid, Rubens Sonsol Gondim e Fábio Rodrigues de Miranda.

Expediente

Revisão de texto: Marcos Antonio Nakayama

Editoração eletrônica: Arilo Nobre de Oliveira

Normalização bibliográfica: Edineide Maria M. Maia.