

Multiplicação *in vitro* do abacaxizeiro 'smooth cayenne' utilizando benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA)

Roberto Fontes Araujo¹
Dalmo Lopes Siqueira²
Paulo Roberto Cecon³

RESUMO

O trabalho teve como objetivo estudar o efeito de diferentes concentrações de BAP (0,0; 1,0; 2,0 e 3,0 mg/L) e ANA (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg/L) na proliferação de brotos de abacaxizeiro 'Smooth Cayenne', a partir de plântulas produzidas *in vitro*. As combinações das concentrações dos hormônios foram adicionadas ao meio 'MS', com 5 g/L de ágar e 30 g/L de sacarose. Os explantes, devidamente preparados, foram colocados nos meios e incubados a 27°C, com fotoperíodo de 16 horas, a 19,5 $\mu\text{mol d}^{-1} \text{m}^{-2}$. Após 25 e 50 dias de incubação realizou-se a contagem do número de brotos formados. Estimou-se que a maior proliferação de brotos foi obtida na ausência de ANA e com 2,243 mg/L de BAP; entretanto, no tratamento sem ANA e com 1,0 mg/L de BAP, os brotos neoformados se apresentaram mais desenvolvidos e mais fáceis de serem subcultivados. Nos tratamentos sem BAP os explantes se apresentaram bem desenvolvidos, enraizados e sem proliferação de brotos.

Palavras-chave: Abacaxi, micropropagação, cultura de tecidos.

ABSTRACT

In vitro pineapple shoot proliferation in benzylaminopurine (BAP) and naphthaleneacetic acid (NAA) concentrations

This research was carried in order to study the effect of different BAP (0,0; 1,0; 2,0 and 3,0 mg/L) and NAA (0,0; 0,5; 1,0 and 1,5 mg/L) concentrations on Smooth Cayenne pineapple shoot proliferation, using *in vitro* plantlets. Concentration of hormone combinations were added to "MS" medium, with 5 g/L of water and 30 g/L of sucrose. Explants were placed on media and incubated at 27°C, with photoperiod of 16 hours, 19,5 $\mu\text{mol d}^{-1} \text{m}^{-2}$. After 25 and 50 days of incubation the number of formed shoots was recorded. The greatest shoot proliferation was obtained in the absence of NAA and with 2.243 mg/L of BAP. In the treatment without NAA and with 1.0 mg/L of BAP, however, the formed shoots were stronger and easier to be subcultivated. On the other hand, in the treatments without BAP the explants were well developed, rooted and without shoot proliferation.

Key words: pineapple, micro propagation, tissue culture.

Recebido para publicação em junho de 2007 e aprovado em setembro de 2008

¹ EPAMIG, Centro Tecnológico da Zona da Mata, Vila Gianetti, 46/47, Campus da UFV, 36570-000, Viçosa-MG. E-mail: raraujo@ufv.br. Bolsista BIPDT FAPEMIG

² Departamento de Fitotecnia - Universidade Federal de Viçosa, s/n., CEP 36570-000, Viçosa-MG

³ Departamento de Informática - Universidade Federal de Viçosa, s/n., CEP 36570-000, Viçosa-MG

INTRODUÇÃO

O uso de material de plantio de boa qualidade é fundamental para se lograr êxito em qualquer atividade agrícola. A disponibilidade de mudas de abacaxi em quantidade e qualidade é um problema sério para os fruticultores. A demanda de material propagativo é muito grande, já que para o plantio de um hectare são necessárias de 35.000 a 70.000 mudas, dependendo do espaçamento usado. Por outro lado, a taxa média de produção de mudas por planta é relativamente pequena, variando de 3 a 6 mudas ao final de 18 meses de cultura (Py *et al.*, 1984).

Com relação à qualidade da muda, esta é comprometida pela ocorrência da fusariose (*Fusarium subglutinans* f. sp. *ananas*), (Pissarra *et al.*, 1979) e cochonilhas (*Dysmicoccus brevipes*). Frequentemente, as plantas com frutos doentes produzem mudas infectadas, o que normalmente acarreta perdas que variam de 15 a 20% do material propagativo no pré e no pós-plantio (Matos, 1987).

Mudas sadias de boa qualidade podem ser obtidas com o uso da técnica de multiplicação rápida em viveiros, usando o seccionamento do caule das plantas (Pissarra *et al.*, 1979). Outra alternativa que vem se tornando eficiente e viável é a utilização da técnica de micropropagação, podendo ser empregada não só na produção de mudas sadias dos cultivares comerciais, mas também dos novos genótipos com resistência à fusariose.

É importante salientar que no melhoramento genético, muitas vezes é selecionada apenas uma planta híbrida com características desejáveis; e pela grande quantidade de material necessário para os trabalhos de campo, o melhorista levaria de 10 a 12 anos para obter, pelo processo tradicional, o número de mudas necessário para o plantio de apenas 1 ha (Ventura, 1994).

A técnica de micropropagação do abacaxizeiro é um sistema rápido de clonagem quando comparado com o sistema tradicional; meristemas ou gemas laterais e terminais de várias partes da planta podem ser utilizadas para a cultura *in vitro*. Lakshmi Sita *et al.* (1974), utilizando mudas filhote de um mês de idade, tiveram sucesso na micropropagação. Mathews & Rangan (1974) e Ventura (1994) também obtiveram sucesso pelo uso de gemas da coroa. Deew (1980) considera como melhor material as gemas axilares da base das folhas e estima poder obter 1.250.000 plantas de abacaxi, num período de 6 meses, partindo de 30 explantes viáveis. Zepeda & Sagawa (1981) afirmam que pelo menos 5.000 plantas podem ser obtidas em 12 meses, por meio do cultivo de gemas axilares extraídas de uma coroa. Ventura (1994) conseguiu obter, ao final de seis meses, partindo de um único explante, em média, 1024 brotações e a aclimação em casa de vegetação de 512 plantas.

Vários pesquisadores têm estudado as técnicas de micropropagação *in vitro* do abacaxizeiro, usando como base o meio de Murashige e Skoog (MS) e de Murashige e Tucker (MT) (Cote *et al.*, 1991; Fitchet, 1990; Martinazzo *et al.*, 1991; Pescador & Koller, 1992; Zeppeda & Sagawa, 1981). Entretanto, estas técnicas ainda não são totalmente dominadas, não havendo uma definição concreta da composição do meio, para as diferentes etapas do processo, principalmente com relação à concentração de fitoreguladores.

Parinetier & Lanaud (1976) observaram a formação de brotos, quando o meio "MS" foi suplementado com auxina e cinetina. Zepeda & Sagawa (1981), utilizando no meio de cultura 0,5 a 1,0 mg/L de BA, conseguiram obter, em 30 dias, um mínimo de 3 brotos por explante. Trabalhando com meio líquido de "MS", em agitação rápida, Liu *et al.* (1987) obtiveram os melhores resultados de proliferação de gemas, quando utilizaram 0,1 mg/L de 2,4-D e 0,3 mg/L de BA.

Marciani-Bendezú *et al.* (1990), trabalhando com o abacaxizeiro "Smooth Cayenne" e estudando o efeito de diferentes doses de BAP, em meio "MS" sólido, observaram que a maior formação de brotos por explante foi obtida utilizando-se a concentração de 5,0 mg/L.

Visando a desenvolver um protocolo para a micropropagação *in vitro* de diferentes genótipos de abacaxizeiro, Ventura (1994) concluiu que, na fase de indução de proliferação de gemas, se deve utilizar o meio "MS", suplementado com 2,0 mg/L de ANA e 2,0 mg/L de BAP.

Trabalhando com a variedade de abacaxi Amarelinho, Pescador *et al.* (1994) realizaram um estudo, objetivando, também, desenvolver um protocolo de micropropagação. Os autores concluíram que na fase de multiplicação a indução de proliferação de gemas múltiplas ocorreu em maior intensidade nos meios de cultura contendo 0,5 mg/L de ácido naflenoacético (ANA) e 1,0 mg/L de benzilaminopurina (BAP).

Apesar da técnica de micropropagação do abacaxizeiro ter sido estabelecida, melhorias no protocolo desta espécie ainda são necessárias, sobretudo no que se refere à utilização de concentrações de BAP e ANA, conforme resultados, a seguir. Medeiros *et al.* (2001) mostraram que a utilização da associação das concentrações de 4,0 e 2,0 mg/L e 2,0 e 1,0 mg/L de BAP e ANA, respectivamente, no meio de cultura favorecem a multiplicação, entretanto, os brotos apresentam um alongamento da parte aérea muito pequeno e são de difícil individualização. Em trabalho mais recente Macêdo *et al.* (2003) verificaram que apesar do tratamento de maior concentração em BAP e ANA (1,0 mg/L e 0,5 mg/L, respectivamente) apresentar vantagens como maior número de brotos, os tratamentos de concentrações intermediárias (0,5 mg/L de BAP e 0,25 mg/L de ANA) e menor (0,25 mg/L de BAP e 0,12 mg/L de ANA) são os mais indicados para serem adicionados ao

meio de cultura devido a maior facilidade de individualização dos brotos. Moreira *et al.* (2003) concluíram que o meio MS suplementado com 1,8 mg/L de ANA e 2,0 mg/L de BAP promove maior número de brotações quando se retira o ápice dos brotos estiolados.

Como os resultados de pesquisa obtidos ainda apresentam variações, o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de diferentes concentrações dos fitormônios benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA) na proliferação de brotos de abacaxi 'Smooth Cayenne', via micropropagação.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa.

Utilizaram-se como explante inicial gemas axilares extraídas de coroas de frutos maduros de abacaxi da cv. "Smooth Cayenne". As coroas foram lavadas com água destilada, desfolhadas e tratadas externamente, por imersão, durante 20 minutos, em uma solução de benomil a 0,1%, contendo duas a três gotas de tween 20; em seguida, realizou-se uma lavagem do material em água destilada esterilizada.

Em câmara de fluxo laminar, foram cortados cubos de tecidos de aproximadamente 0,5 a 1,0 cm³, contendo as gemas axilares, sendo novamente desinfetadas em solução de etanol 70%, por 60 segundos e em solução de hipoclorito de sódio, a 1,25%, por 20 minutos. Em seguida, procedeu-se a tríplex lavagem, em água destilada esterilizada e imersão por cinco minutos em cloranfenicol e sulfato de estreptomicina a 200 µg/mL. Posteriormente, também em câmara de fluxo laminar, com o auxílio de pinça e bisturi, os cubos de tecidos foram assepticamente cortados, obtendo-se explantes com 1-2 mm, prontos para serem colocados no meio de cultura.

Na fase inicial, utilizou-se o meio de cultura básico de "MS" (Murashige & Skoog, 1962), na forma líquida, suplementado com os reguladores de crescimento ANA (1,8 mg/L), AIB (2,0 mg/L) e cinetina (2,1 mg/L). Após o ajuste de pH para $5,7 \pm 0,1$, foram colocados 10 ml do meio em cada tubo de ensaio (25 x 150 mm), com ponte de papel; em seguida, os tubos foram vedados e levados para autoclavagem, a 121°C e 1,5 atm, durante 15 minutos.

Imediatamente após terem sido reduzidos para 1-2 mm de espessura, por meio de cortes com o bisturi, preservando a gema axilar, os explantes contendo as gemas, foram introduzidos, com o auxílio de uma pinça, nos tubos de ensaio. Em seguida, os tubos, contendo o meio de cultura e os explantes, foram incubados, a 27°C, em fotoperíodo de 16h, fornecido por lâmpadas fluorescentes de luz branca fria, com aproximadamente 19,5 µmol d⁻¹

m⁻². Aproximadamente três meses após o início de incubação, os tubos foram levados para a câmara de fluxo laminar, e os explantes que se apresentavam bem desenvolvidos foram preparados e transferidos para o novo meio de cultura básico de "MS", solidificado com ágar a 5 mg/L e suplementado com 2,0 mg/L de glicina e diferentes concentrações dos reguladores de crescimento benzilaminopurina-BAP (0,0; 1,0; 2,0 e 3,0 mg/L de solução) e ácido naftalenoacético-ANA (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg/L de solução). Os procedimentos de ajuste de pH, autoclavagem dos meios e incubação do material foram semelhantes aos utilizados anteriormente.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com dez repetições. Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 4x4 (quatro concentrações de BAP e quatro concentrações de ANA).

Aos 25 e 50 dias após a incubação, foi avaliado, por explante, o número de brotos formados, com tamanho superior a 1 cm.

Os dados obtidos foram submetidos a técnica de superfície de resposta. Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão, utilizando o teste t, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação e no fenômeno biológico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados médios do número de brotos formados por explante, de acordo com as diferentes concentrações de benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA), após 25 e 50 dias de incubação, estão apresentados nos Tabelas 1 e 2, respectivamente. As Figuras 1 e 2, descritas por suas respectivas equações, ilustram a interação das diferentes concentrações de BAP e ANA sobre a proliferação de brotos, após 25 e 50 dias de incubação, respectivamente.

Após 25 dias de incubação (Figura 1) já observou-se uma tendência de maior formação de brotos na ausência ANA e em concentrações de BAP superiores a 0,5 mg/L. Nos tratamentos com concentrações de ANA acima de 0,5 mg/L, houve tendência de redução na proliferação de brotos.

Após 50 dias de incubação (Figura 2), a tendência de formação de um maior número de brotos na ausência de ANA tornou-se mais evidente, sendo que, à medida que se aumentou a concentração de BAP, houve um correspondente aumento na proliferação de brotos.

Estima-se, pela equação da Figura 2, que o maior número de brotos formados por explante (média de 16,81), após 50 dias de incubação pode ser obtido, utilizando-se as concentrações de 0,0 mg/L de ANA e 2,243 mg/L de BAP. Entretanto, vale ressaltar que o tratamento com as

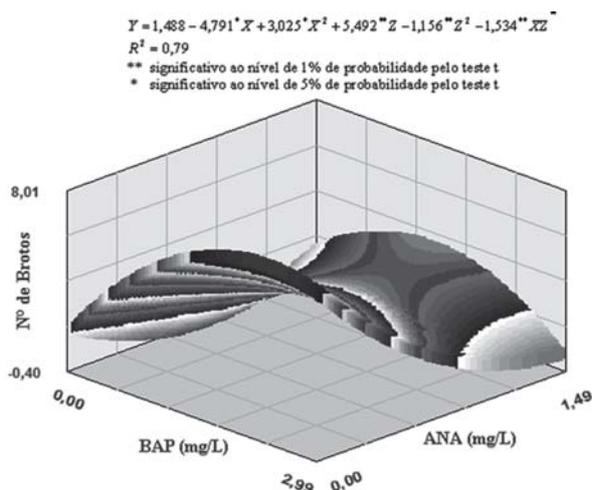


Figura 1 – Estimativa do número de brotos neoformados, após 25 dias de incubação, em função de concentrações de ANA (X) e BAP (Z).

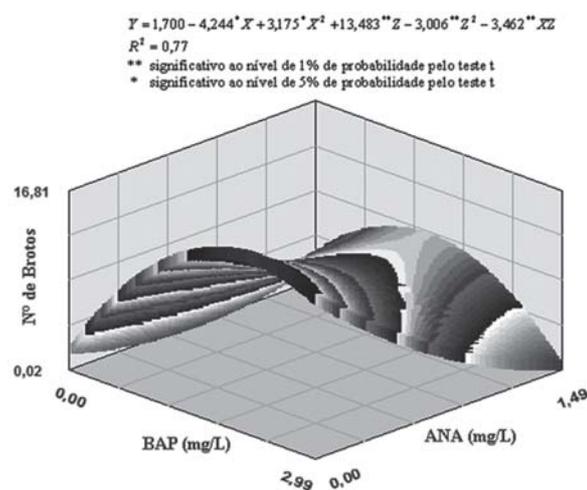


Figura 2 – Estimativa do número de brotos neoformados, após 50 dias de incubação, em função de concentrações de ANA (X) e BAP (Z).

concentrações de 0,0 mg/L de ANA e 1,0 mg/L de BAP, seguido do tratamento com 0,0 mg/L de ANA e 2,0 mg/L de BAP, foram aqueles que apresentaram brotos mais desenvolvidos e mais fáceis de serem subcultivados.

Os tratamentos com as concentrações de 0,5 ou 1,0 mg/L de ANA e 1,0 ou 2,0 mg/L de BAP, proporcionaram boa multiplicação dos explantes, entretanto, estas brotações se desenvolveram menos e se mostraram difíceis de serem subcultivadas. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Medeiros *et al.* (2001), os quais mostraram que a utilização da associação das concentrações de 2,0 mg/L de BAP e 1,0 mg/L de ANA no meio de cultura favorecem a multiplicação, entretanto, os brotos apresentam um alongamento da parte aérea muito pequeno e são de difícil individualização.

Os resultados observados neste trabalho diferiram daqueles obtidos por Pescador *et al.* (1994), os quais mostraram que a indução de proliferação de gemas múltiplas ocorreu em maior intensidade nos meios contendo 0,5 mg/L de ANA e 1,0 mg/L de BAP, entretanto, os autores utilizaram no trabalho a cv. Amarelinho. Segundo Hu & Wang (1983), as auxinas, como ANA, podem dar respostas diferentes *in vitro*, e a citocinina BAP induz a formação de grande número de brotos e alta taxa de multipli-

cação em sistemas de micropropagação, o que pode explicar as diferenças de resultados.

Com relação ao número de brotos formados por explante, o maior valor estimado obtido nesse trabalho (16,81) foi superior aos obtidos por Cabral (1985) (10 a 15 brotos/explante) e aos de Zepeda & Sagawa (1981), que registraram um mínimo de 3 novos brotos por explante. Entretanto, foi inferior ao obtido por Marciani-Bendezú *et al.* (1990), que conseguiram, em média, a formação de 26,9 brotos por explante, utilizando o meio MS, suplementado com 5,0 mg/L de BAP. A superioridade dos resultados alcançados por estes autores, provavelmente está relacionada com a metodologia utilizada, o princípio de quebra de dormência (eliminação da gema apical), induzindo uma maior brotação. Além disso, os autores não mencionaram o tamanho das brotações que foram contadas. No presente trabalho, somente foram registrados os brotos maiores que 1 cm de altura.

Alguns tratamentos, assinalados com asterisco na Tabela 1, induziram a formação de calos nos explantes, antes da proliferação de brotos. Os calos desenvolvidos apresentavam-se compactos, de coloração branca e amarelo claro, com intensa atividade meristemática. Yeoman (1970) considera que o crescimento de calo em diferentes

Tabela 1. Número médio de brotos formados por explante, nas diferentes concentrações de BAP e ANA, após 25 dias de incubação

ANA (mg/L)	BAP (mg/L)			
	0,0	1,0	2,0	3,0
0,0	0,5**	6,8	7,9	8,2
0,5	0,3**	4,2*	3,2*	2,5*
1,0	0,4**	3,9*	2,6*	1,9*
1,5	0,6**	3,4*	1,9*	1,1*

* Houve formação de calos nos explantes, antes da proliferação de brotos.** Ocorreu enraizamento e maior taxa de multiplicação.

Tabela 2. Número médio de brotos formados por explante, nas diferentes concentrações de BAP e ANA, após 50 dias de incubação

ANA (mg/L)	BAP (mg/L)			
	0,0	1,0	2,0	3,0
0,0	0,5	13,1	15,9	16,3
0,5	0,3	11,6	9,2	6,9
1,0	0,4	10,5	7,3	4,2
1,5	0,6	9,2	4,8	1,4

espécies e tecidos pode ser: independente de auxina e citocinina, dependente de auxina, dependente de citocinina ou dependente de ambas, auxina e citocinina.

Os resultados desse trabalho indicaram que houve uma interação dos dois fitorreguladores, visto que, apenas os tratamentos com a presença de ANA e BAP induziram a formação de calos, sendo maior nas concentrações mais altas (1,0 mg/L de ANA e 3,0 mg/L de BAP). Vale ressaltar que a formação de calos é indesejável na micropropagação comercial de genótipos superiores; entretanto, a calogênese pode ser uma técnica de grande utilidade na obtenção de variabilidade genética em abacaxizeiro, visando à resistência à fusariose.

Os tratamentos que não utilizaram BAP no meio de cultivo estimularam o enraizamento e um maior crescimento dos explantes, sem, contudo, induzirem a proliferação de brotos (Tabela 1). O enraizamento e o crescimento dos explantes foram mais intensos na maior dose de ANA (1,0 mg/L). A disponibilidade e interação de auxinas e citocininas regula a formação de raiz, parte aérea e calo. Como nestes tratamentos a concentração de BAP, responsável pela formação de grande número de brotos e alta taxa de multiplicação em sistemas de micropropagação, foi nula, os nutrientes contidos no meio foram canalizados para a formação de raízes e crescimento dos explantes. Também, possivelmente, nesta situação de ausência de BAP, a auxina ANA atuou no sistema, induzindo a formação de um maior número de raízes.

CONCLUSÕES

Baseado nos métodos utilizados e nos resultados obtidos neste trabalho, conclui-se que:

Estima-se que a ausência de ANA e a presença de BAP na concentração de 2,243 mg/L de meio de cultura, favorece uma maior proliferação de brotos por explante; entretanto, nas concentrações de BAP de 1,0 e 2,0 mg/L, os brotos formados se apresentam mais desenvolvidos e mais fáceis de serem subcultivados.

A interação de doses a partir de 0,5 mg/L de ANA e a partir de 1,0 mg/L de BAP pode induzir a formação de calos nos explantes, antes da proliferação de gemas.

Na ausência de BAP, praticamente, não há formação de brotos, e sim o enraizamento e maior crescimento dos explantes. Nestas condições, quanto maior a concentração de ANA no meio, maior é o número de raízes emitidas.

AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo patrocínio desse projeto de pesquisa e pela concessão da bolsa de pesquisa ao primeiro autor.

RERERÊNCIAS

- Cote R, Domergue R, Folliot M, Bouffin J & Marie F (1991) Micropropagation *in vitro* de ananás. *Fruits* (nº esp. ananas). p.359-66.
- Cabral JRS (1986) Micropropagação do abacaxizeiro *in vitro*. In: 1º Simpósio Nacional de Cultura de Tecidos Vegetais, Brasília. Anais, EMBRAPA-DDT. p.99.
- Drew RA (1980) Pineapple Tissue Culture: Unquued for rapid multiplication. *Queensland Agriculture Journal*, 106:447-51.
- Fttchet M (1990) Clonal propagation of Queen and Smooth Cayenne pineapple. *Acta Horticulturae*, 275:261-66.
- Hu CY & Wang PJ (1983) Meristem, shoot tip, and bud cultores. In: Evans DA, Sharp WR, Ammirato PV & Yamada, Y (Eds.) *Handbook of plant cell culture*. New York. p. 177-227.
- Lakshmi Sita G, Simgh R & Iyer CPA (1974) Plantiets Through Shoot-Tip culture in pineapple. *Current Science*, 43:22:724-725.
- Liu LJ, Rosa-Marques E & Iizardi E (1987) *In vitro* propagation of spineless Red Spanish pineapple. *Phytopathology*, 77:12:1711. (abst. 192).
- Macêdo CEC, Silva MG, Nóbrega FS, Martins CP, Barroso PAV & Alloufa MAI (2003) Concentrações de ANA e BAP na micropropagação de abacaxizeiro L. Merrill (*Ananas comosus*) e no cultivo hidropônico das plântulas obtidas *in vitro*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25:3:501-504.
- Marciani-Bendezú J, Pinto JEBP & Pasqual M (1990) Efeito de 6-benzilaminopurina (BAP) sobre a proliferação de brotos de abacaxizeiro, a partir de plântulas produzidas *in vitro*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 12:1:35-39.
- Martinazzo CFA, Ventura JA, Teixeira SL & Zambolim L (1991) Indução de calos a partir de explantes de abacaxi (*Ananas comosus*). In: 1º Simpósio Mineiro de Iniciação Científica, Viçosa. Programa e Resumos, UFV. p.10.
- Mathews VH & Rangan TS (1974) Multiple plantlet in lateral bud and leaf explant *in vitro* culture of pineapple. *Scientia Horticulturae*, 14:4:227-234.
- Matos AP (1987) Pineapple fusariosis in Brazil: an overview. *Fruits*, 42:7/8:417-422.
- Medeiros DN, Macêdo CEC & Alloufa MAI (2001) Efeito do NaCl sobre a multiplicação *in vitro* de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L. Merrill). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23:1:01-05.
- Moreira MA, Pasqual M, Carvalho JG & Fráguas CB (2003) Estiolamento na micropropagação do abacaxizeiro CV. Pérola. *Ciência e Agrotecnologia*, 27:5:1002-1006.
- Murashige T & Skoog F (1962) A revised médium of rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15:473-497.
- Pannetier C & Lanaud C (1976) Divers aspects de l'utilisation possible des cultures '*in vitro*' pour la multiplication vegetative de l'Ananas comosus L. Merr. variété 'Cayenne liss'. *Fruits* 31: 739-750.
- Pescador R, Guerra MP, Pedrotti EL & Zaffari GR (1994) Desenvolvimento e otimização de um protocolo de micropropagação do abacaxizeiro cv. Amarelinho. In: 13º Congresso Brasileiro de Fruticultura, Salvador. Anais, SBF. p.6-7.
- Pescador R & Koller OC (1992) Propagação *in vitro* do abacaxizeiro (*Ananas comosus* L.) Merrill. cv. Pérola. *Revista Brasileira Fruticultura*, 14: 1-4.

- Pissarra TB, Chaves GM & Ventura JA (1979) Sintomatologia da fusariose (*Fusarium moniliforme* Sheld var. *subglutinans* Wr. & Rq.) do abacaxizeiro. Fitopatologia Brasileira, 4: 225-263.
- Py C, Lacoeuilhe JJ & Teisson C (1984) L'Ananas sa culture, ses produits. Paris, G.M. Maisoneuve et Larose. 562p.
- Ventura JA (1994) Fusariose do abacaxizeiro: caracterização do patógeno, epidemiologia da doença, resistência e micropropagação do hospedeiro *in vitro*. Tese de doutorado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 111p.
- Zeppeda C & Sagawa Y (1981) *In vitro* propagation of pineapple. HortScience 16:4:495.
- Yeoman MM (1970) Callus development in callus culture. Intl. Rev. Cytol. 29:383-409.