

ESTERILIZAÇÃO QUÍMICA E AGENTES GELEIFICANTES ALTERNATIVOS NA PROPAGAÇÃO VEGETATIVA *IN VITRO* DO ABACAXIZEIRO ‘VITÓRIA’¹

RODRIGO DA SILVA OLIVEIRA², MONIQUE RODRIGUES PEREIRA³,
VIRGINIA SILVA CARVALHO⁴, JEFFERSON RANGEL DA SILVA⁵, ELIEMAR CAMPOSTRINI⁶

RESUMO-O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da esterilização química do meio de cultura e de agentes geleificantes alternativos e sua influência no desenvolvimento *in vitro* e *ex vitro* de plantas de abacaxizeiro ‘Vitória’. O meio de cultivo utilizado foi composto pelos sais do MS e vitaminas de White, com 30 g L⁻¹ de sacarose e 100 mg L⁻¹ de mioinositol. Foram realizadas duas formas de esterilização dos meios de cultivo e das vidrarias: em autoclave a 121°C e com solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 0,003% para enxágue das vidrarias e 0,0003% no meio de cultivo. Os agentes geleificantes testados foram: M1: ágar (6,0 g L⁻¹); M2: amido de milho (60,0 g L⁻¹); M3: ágar (3,0 g L⁻¹) + amido de milho (30,0 g L⁻¹) e M4: ágar (3,0 g L⁻¹) + amido de mandioca (30,0 g L⁻¹). Após 30 dias de cultivo *in vitro*, constatou-se que o NaClO e os agentes geleificantes alternativos não interferiram no crescimento e no desenvolvimento das mudas. Parte das mudas de cada tratamento foi aclimatizada durante 90 dias, após os quais se verificou que não houve influência dos agentes geleificantes no crescimento destas, e, para a maioria dos parâmetros avaliados, as mudas oriundas dos tratamentos envolvendo a esterilização química apresentaram resultados semelhantes ou superiores às dos meios autoclavados.

Termos para indexação: *Ananas comosus* var. *comosus*, hipoclorito de sódio, amido de milho, amido de mandioca, micropropagação.

CHEMICAL STERILIZATION AND ALTERNATIVE GELLING AGENTS IN THE *IN VITRO* VEGETATIVE PROPAGATION OF PINEAPPLE ‘VITÓRIA’

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the efficiency of chemical sterilization of the culture medium and alternative gelling agents and their influence on development *in vitro* and *ex vitro* plants of pineapple ‘Vitória’. The culture medium used was composed of MS salts and White vitamins, with 30 g L⁻¹ of sucrose and 100 mg L⁻¹ of myo-inositol. Two forms of sterilization of the media culture and the glassware were performed: in autoclave at 121°C and with solution of sodium hypochlorite (NaClO) at 0.003% to rinse the glassware and 0.0003% in the culture medium. The gelling agents tested were: M1: agar (6.0 g L⁻¹); M2: corn starch (60.0 g L⁻¹); M3: agar (3.0 g L⁻¹) + corn starch (30.0 g L⁻¹) and M4: agar (3.0 g L⁻¹) + cassava starch (30.0 g L⁻¹). After 30 days of *in vitro* cultivation was found that the NaClO and alternative gelling agents did not affect the growth and development of plantlets. Part of the plantlets of each treatment was acclimatized during 90 days, after which it was found that there was no influence of gelling agents on plantlets growth. For most of the parameters evaluated, the plantlets derived from treatments involving the chemical sterilization showed results similar or superior to the autoclaved media.

Index terms: *Ananas comosus* var. *comosus*, sodium hypochlorite, corn starch, cassava starch, micropropagation.

¹(Trabalho 121-14). Recebido em: 01-04-2014. Aceito para publicação em: 07-10-2015. Parte da monografia de conclusão de curso do primeiro autor. UENF

²Engenheiro Agrônomo UENF/CCTA/LFIT. E-mail: oliveira_r_s@hotmail.com

³Mestre em Produção Vegetal UENF/CCTA/LFIT. E-mail: moniquerodriguesp@yahoo.com.br

⁴Dra. em Fitotecnia, Professora Associada UENF/CCTA/LFIT. E-mail: virginia@uenf.br

⁵Mestrando em Produção Vegetal UENF/CCTA/LMGV. E-mail: jefferson-rangel@hotmail.com

⁶Dr. em Produção Vegetal, Professor Associado UENF/CCTA/LMGV. E-mail: campostenator@gmail.com

INTRODUÇÃO

A fruticultura é uma das mais importantes atividades do agronegócio brasileiro, e nesse contexto destaca-se a cultura do abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *comosus*), que é a sexta fruteira mais plantada no Brasil, com uma área plantada de 80.582 ha em 2012 (FAO, 2013; IBGE, 2013).

A cultivar Vitória apresenta características agrônômicas semelhantes ou superiores à 'Pérola' e à 'Smooth Cayenne', que são as cultivares mais plantadas no Brasil. Entre elas, destacam-se o alto vigor, a ausência de espinhos nas folhas e a resistência à fusariose, considerado o maior problema fitossanitário da abacaxicultura no Brasil (VENTURA et al., 2006).

O principal método de propagação comercial do abacaxizeiro é por meio de mudas produzidas na própria planta, o que ocasiona a disseminação de patógenos e doenças, desuniformidade na produção e redução da produtividade (REINHARDT; CUNHA, 2006).

Outro método que vem sendo utilizado na multiplicação do abacaxizeiro é a propagação vegetativa *in vitro*, que permite a obtenção de clones por meio da utilização de gemas axilares, que são estabelecidas em meio de cultivo asséptico, sob condições controladas de temperatura e luminosidade. Contudo, embora esta técnica apresente inúmeras vantagens em relação à propagação convencional, as mudas micropropagadas possuem um custo elevado devido a diversos fatores, como a infraestrutura dos laboratórios de produção, a necessidade de mão de obra capacitada e a utilização de meios de cultivo artificiais para o seu desenvolvimento (SOUZA; JUNGHANS, 2006).

Alguns estudos têm sido realizados utilizando polissacarídeos alternativos para substituir o ágar na geleificação de meios de cultivo, como amido de milho e de mandioca. Além da facilidade de obtenção e do baixo custo, estes produtos já apresentaram resultados satisfatórios na propagação *in vitro* de algumas culturas, tornando-se importantes aliados na busca da maior eficiência econômica do processo de propagação de plantas em laboratório (FERRI et al., 1998; ERIG et al., 2004; COSTA et al., 2007; PEREIRA, 2011).

Ainda na tentativa de reduzir os custos do processo de micropropagação, uma importante etapa passível de ser modificada é a assepsia, fator fundamental na cultura de tecidos de plantas. No método convencional, utiliza-se da autoclavagem dos meios de cultivo, que se constitui numa operação dispendiosa que demanda alto consumo

de energia elétrica. Uma alternativa mais econômica para eliminar os possíveis contaminantes durante o processo é a utilização do hipoclorito de sódio (NaClO), que é um produto químico com elevado potencial esterilizante de meios de cultura, como demonstrado por Teixeira et al. (2006), Ribeiro e Teixeira (2007) e Teixeira et al. (2008).

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a substituição da esterilização física pela química com NaClO e o efeito dos amidos de milho e de mandioca no crescimento e no desenvolvimento de mudas de abacaxizeiro 'Vitória', visando à produção de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária e, desta forma, contribuindo para a redução dos custos de produção do meio de cultura e das mudas.

MATERIAL E MÉTODOS

Enraizamento *in vitro*

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitotecnia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), localizada no município de Campos dos Goytacazes – RJ (Latitude: 21° 19' 23"; Longitude: 41° 10' 40" W; Altitude: 14 m). Foram utilizadas brotações de abacaxizeiro 'Vitória' no quinto subcultivo da fase de multiplicação, provenientes do Laboratório Biomudas, situado no município de Venda Nova do Imigrante-ES.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com esquema fatorial 4 x 2: quatro combinações de agentes geleificantes e duas formas de esterilização do meio de cultura e vidrarias, com 10 repetições. Cada repetição constituiu-se de um frasco com 40 mL de meio de enraizamento contendo cinco brotações.

O meio utilizado no enraizamento dos explantes foi composto pelos sais de MS e pelas vitaminas de White (MURASHIGE; SKOOG, 1962), 30 g L⁻¹ de sacarose e 100 mg L⁻¹ de mioinositol. Os agentes geleificantes foram: M1: ágar bacteriológico Vetec® (6,0 g L⁻¹); M2: amido de milho Maizena® (60,0 g L⁻¹); M3: ágar (3,0 g L⁻¹) + amido de milho (30,0 g L⁻¹) e M4: ágar (3,0 g L⁻¹) + amido de mandioca Amafil® (30,0 g L⁻¹).

Foram realizadas duas formas de esterilização do meio de cultivo e vidrarias: esterilização física (EF), por meio de autoclavagem a 1,0 atm e 121°C por 20 minutos, e esterilização química (EQ), com utilização de hipoclorito de sódio Vetec® a 5%. A esterilização química foi realizada em câmara de fluxo laminar, sendo o enxágue dos frascos e utensílios realizado em solução de NaClO a 0,003%

e com a adição de NaClO a 0,0003% ao meio de cultivo após sua fervura em micro-ondas (TEIXEIRA et al., 2006).

Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram submetidos à poda do sistema radicular e das folhas, objetivando-se uniformizar as brotações. Em seguida, foram colocadas cinco brotações por frasco de cultivo (65 x 125 mm), e estes foram mantidos em sala de cultivo por 30 dias à temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$ e irradiância de $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, provida por lâmpadas fluorescentes (OSRAM®, luz do dia) e fotoperíodo de 16h8 (luz:escuro). Após esse período, metade das mudas de cada tratamento foi avaliada quanto aos parâmetros porcentagem de sobrevivência, massa da matéria fresca e seca, número de folhas e de raízes.

Aclimatização

Esta etapa foi conduzida em casa de vegetação com cobertura de plástico (100 μm) e Sombrite® a 50% na Unidade de Apoio à Pesquisa do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da UENF no período de abril a junho de 2012.

Metade das mudas da etapa anterior foi aclimatizada em bandejas de poliestireno expandido com 200 células de aproximadamente 18,3 cm^3 por célula. O delineamento experimental foi o em blocos ao acaso, mantendo o mesmo esquema fatorial da fase anterior, com três repetições e oito plantas por parcela.

Após a retirada dos frascos, as plantas foram lavadas em água corrente para a eliminação do meio de cultivo. O plantio foi feito utilizando o substrato Plantmax® Hortaliças. Foram realizadas adubações quinzenais com solução nutritiva de Hoagland e Arnon (1950) (RESH, 1997), sendo aplicados três mililitros da solução em cada planta.

A etapa de aclimatização durou 90 dias, e ao final deste período, foram avaliados: porcentagem de sobrevivência, número de folhas, altura e diâmetro da roseta, massa da matéria fresca, área foliar, volume de raiz e massa da matéria seca da parte aérea, da raiz e total. Também aos 90 dias, foram determinados o rendimento quântico máximo do fotossistema II ou eficiência fotoquímica (F_v/F_m) e o índice fotossintético (PI), com auxílio do fluorímetro não modulado, modelo Pocket PEA Chlorophyll Fluorimeter (Hansatech Instruments – King's Lynn, Norfolk). Concomitantemente, estimou-se o teor de clorofila pela determinação da intensidade de verde, utilizando o medidor portátil de clorofila SPAD-502 Chlorophyll Meter (Minolta, Japão).

Os dados foram submetidos aos testes de Lilliefors e Bartlett para a verificação da normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias entre

os tratamentos. Em seguida, foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade, utilizando o programa SAEG® (SAEG, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Enraizamento *in vitro*

A sobrevivência das brotações no enraizamento *in vitro* foi de 100% em todos os tratamentos. Para os parâmetros massa da matéria fresca, número de folhas, número de raízes, massa da matéria seca da parte aérea e massa da matéria seca total, não foram observadas diferenças significativas proporcionadas pelos agentes geleificantes e as duas esterilizações no desenvolvimento das mudas.

Para a matéria seca das raízes, as mudas oriundas do meio geleificado com ágar (M1) e esterilizado quimicamente apresentaram médias superiores àquelas cultivadas no meio com ágar e autoclavado (Tabela 1).

Aclimatização

A menor taxa de sobrevivência (87,5%) foi observada no tratamento correspondente ao meio geleificado com ágar e esterilizado quimicamente (M1EQ). Nos demais tratamentos, a sobrevivência das mudas foi superior a 95%.

Não foram observadas diferenças significativas entre os agentes geleificantes e as esterilizações para os parâmetros altura da roseta e massa da matéria seca de raízes.

Para o parâmetro número de folhas, na esterilização física, os melhores resultados foram observados nos meios geleificados com ágar e ágar + amido de milho, enquanto na esterilização química não houve diferença significativa entre os meios de cultura. A esterilização química foi superior à física no meio geleificado com amido de milho e ágar + amido de mandioca para número de folhas (Tabela 2). Para a massa da matéria fresca, não foram observadas diferenças entre os agentes geleificantes, e a esterilização química mostrou-se superior à física apenas no meio geleificado com amido de milho, não diferindo nos demais. Quanto ao diâmetro da roseta, as duas esterilizações diferiram apenas no meio geleificado com ágar + amido de mandioca, no qual a autoclavagem foi inferior. Ainda neste parâmetro, o agente geleificante ágar + amido de mandioca foi inferior ao ágar e ao ágar + amido de milho na esterilização física (Tabela 2).

Não ocorreu influência dos agentes geleificantes no volume de raízes, porém a

esterilização química foi inferior à física apenas no meio geleificado com ágar. Para área foliar e massa da matéria seca da parte aérea, a esterilização química foi superior à autoclavagem nos meios geleificados com amido de milho e ágar + amido de mandioca, não diferindo nos demais. Para o parâmetro massa da matéria seca total, foi observada diferença apenas entre as duas formas de esterilização no meio geleificado com ágar + amido de mandioca, sendo este também inferior na comparação entre o ágar e ágar + amido de milho (Tabela 2).

A Figura 1 refere-se à intensidade de verde das mudas após a aclimatização. Pode-se observar que os melhores resultados foram observados nas plantas oriundas dos meios de cultivo geleificados com amido de milho, independentemente da forma de esterilização. De maneira geral, não foi observada diferença significativa entre as esterilizações, enquanto entre os agentes geleificantes, os amidos mostraram-se semelhantes ou superiores ao ágar. De acordo com Netto et al. (2002) e Netto et al. (2005), o medidor portátil de clorofila SPAD é eficiente para avaliar indiretamente o estado fotossintético de plantas, podendo-se sugerir que, uma vez que todas as plantas apresentaram intensidades de verde semelhantes, os tratamentos a que elas foram expostas *in vitro* não interferiram no seu aparato fotossintético.

Constatou-se que a eficiência fotoquímica de todas as plantas oriundas do cultivo *in vitro* situava-se dentro da faixa aceitável, ou seja, não estavam submetidas a nenhum tipo de estresse. Segundo Bolhàr-Nordenkamp et al. (1989), os valores de Fv/Fm em plantas não submetidas a estresse encontram-se na faixa de 0,75 e 0,85, sendo um bom indicador de efeito fotoinibitório, antes mesmo de os sintomas serem visíveis. Esta é uma variável útil no estudo da fotossíntese em plantas com metabolismo ácido das crassuláceas, como é o caso do abacaxizeiro (KELLER; LÜTTGE, 2005), pois permite avaliar precocemente se uma planta está submetida a diferentes tipos de estresse, antes que os sintomas se tornem evidentes (NETTO; CAMPOSTRINI, 2005).

É possível observar que as plantas oriundas dos meios de cultivo esterilizados quimicamente apresentaram desempenho semelhante ou superior em relação àquelas cultivadas nos meios autoclavados, bem como não houve diferença entre os agentes geleificantes alternativos utilizados e o ágar (controle) (Figura 2). Este resultado indica que o NaClO e os amidos usados no cultivo *in vitro* não influenciaram no desempenho fotossintético, e as plantas mantiveram-se saudáveis durante a aclimatização.

O uso do hipoclorito de sódio como agente esterilizante do meio de cultivo mostrou-se eficiente para sua assepsia, conforme observado em outros trabalhos com diferentes culturas, como cana-de-açúcar (SAWANT; TAWAR, 2011; TIWARI et al., 2012), abacaxizeiro Smooth Cayenne (TEIXEIRA et al., 2006), eucalipto (TEIXEIRA et al., 2008) e sequoia (RIBEIRO; TEIXEIRA, 2007).

A substituição do ágar por outros agentes geleificantes no meio de cultivo constitui uma alternativa para reduzir os custos de produção de mudas em larga escala. Pereira (2011) obteve sucesso com a utilização de amido de milho de forma isolada e em combinação com o ágar na geleificação de meios de cultivo para enraizamento *in vitro* de abacaxizeiro 'Vitória'. Costa et al. (2007) verificaram que o amido de mandioca foi eficiente na solidificação do meio de cultivo para multiplicação de duas cultivares de abacaxizeiro. A utilização de amidos de milho e de mandioca também se mostrou viável na micropropagação de macieira, conforme observado por Ferri et al. (1998) e Erig et al. (2004).

Nas avaliações biométricas, de forma geral, observou-se que a esterilização com NaClO proporcionou resultados semelhantes ou superiores à autoclavagem para a maioria das variáveis analisadas. Quanto aos agentes geleificantes, observou-se que, quando houve diferenças significativas, estas ocorreram apenas nos meios esterilizados fisicamente, sendo que a combinação ágar + amido de mandioca foi a que ocasionou os piores resultados para a maioria dos parâmetros avaliados. Estes resultados indicam que, nos meios esterilizados em autoclave, o ágar pode ser substituído total ou parcialmente pelo amido de milho, enquanto na esterilização química se pode usar tanto o amido de milho quanto o de mandioca como substitutos do ágar sem qualquer prejuízo ao desenvolvimento das mudas.

TABELA 1 – Massa da Matéria Seca de Raízes (MSR) em mudas de abacaxizeiro ‘Vitória’ após 30 dias de cultivo em meio de enraizamento *in vitro*, em função dos agentes geleificantes e formas de esterilização. Campos dos Goytacazes – RJ, 2012.

AG	MSR (10 ⁻³ g)		Média
	EF	EQ	
M1	3,1 B a	6,9 A a	5,0
M2	5,8 A a	4,2 A a	5,0
M3	4,6 A a	3,5 A a	4,1
M4	5,2 A a	6,9 A a	6,1
Média	4,7	5,4	
CV(%)	49,35		

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. AG: agente geleificante; M1: ágar; M2: amido de milho; M3: ágar + amido de milho; M4: ágar + amido de mandioca; EF: esterilização física; EQ: esterilização química.

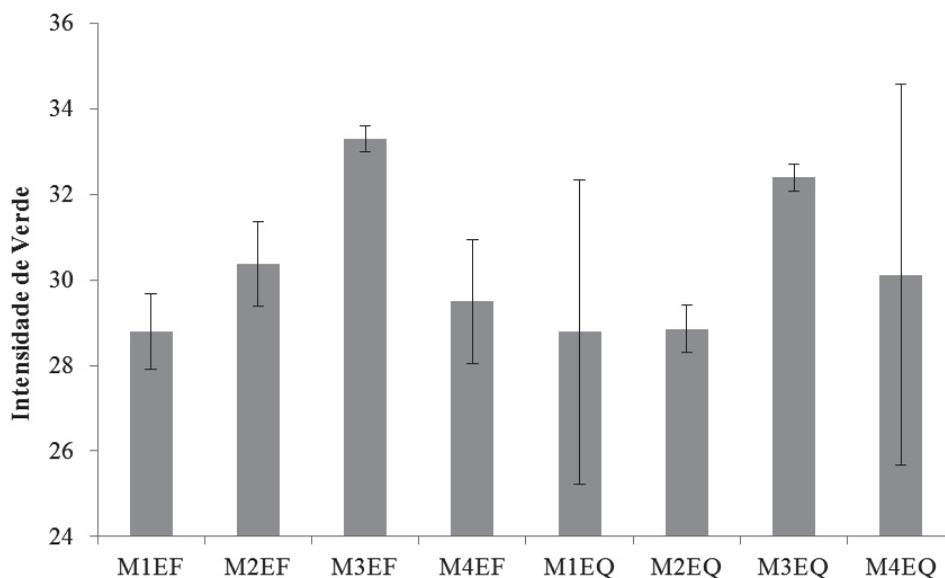
TABELA 2 - Número de Folhas (NF), Massa da Matéria Fresca (MF), Diâmetro da Roseta (DR), Volume de Raízes (VR), Área Foliar (AF), Massa da Matéria Seca da Parte Aérea (MSA) e Massa da Matéria Seca Total (MST) de mudas de abacaxizeiro ‘Vitória’ oriundas de cultivo *in vitro*, após 90 dias de aclimatização em casa de vegetação. Campos dos Goytacazes – RJ, 2012.

AG	NF		Média	MF (g)		Média	DR (cm)		Média
	EF	EQ		EF	EQ		EF	EQ	
M1	12,89 A ab	12,94 A a	12,92	3,87 A a	3,35 A a	3,61	9,08 A a	8,06 A a	8,57
M2	12,00 B bc	13,50 A a	12,75	2,64 B a	3,80 A a	3,22	7,53 A ab	8,80 A a	8,16
M3	13,92 A a	13,19 A a	13,56	3,83 A a	3,59 A a	3,71	8,69 A a	9,43 A a	9,06
M4	11,06 B c	13,33 A a	12,29	2,53 A a	3,49 A a	3,00	6,34 B b	8,35 A a	7,34
Média	12,47	13,24		3,22	3,56		7,91	8,66	
CV(%)	4,51			17,27			10,82		

AG	VR (cm ³)		Média	AF (cm ²)		Média
	EF	EQ		EF	EQ	
M1	0,63 A a	0,35 B a	0,49	37,67 A a	33,47 A a	35,57
M2	0,48 A a	0,49 A a	0,48	25,30 B ab	35,79 A a	30,55
M3	0,51 A a	0,58 A a	0,54	34,98 A a	35,63 A a	35,31
M4	0,44 A a	0,56 A a	0,50	20,17 B b	34,57 A a	27,37
Média	0,51	0,49		29,53	34,87	
CV(%)	30,68			16,63		

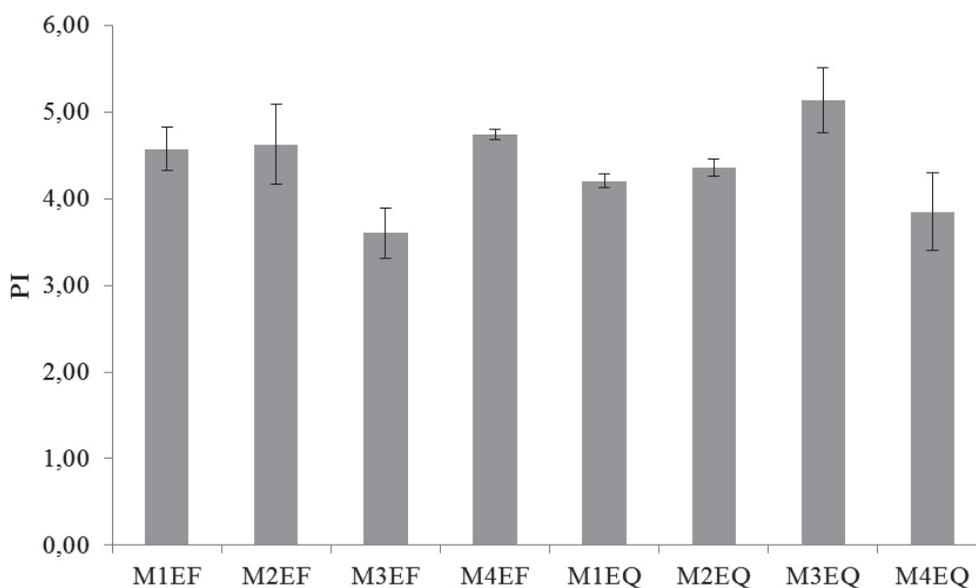
AG	MSA (g)		Média	MST (g)		Média
	EF	EQ		EF	EQ	
M1	0,30 A a	0,25 A a	0,28	0,50 A a	0,41 A a	0,46
M2	0,17 B ab	0,27 A a	0,22	0,32 A ab	0,49 A a	0,41
M3	0,28 A a	0,26 A a	0,27	0,48 A a	0,42 A a	0,45
M4	0,14 B b	0,26 A a	0,20	0,24 B b	0,42 A a	0,33
Média	0,22	0,26		0,39	0,44	
CV(%)	21,65			25,16		

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. AG: agente geleificante; M1: ágar; M2: amido de milho; M3: ágar + amido de milho; M4: ágar + amido de mandioca; EF: esterilização física; EQ: esterilização química.



Legenda: M1: ágar; M2: amido de milho; M3: ágar + amido de milho; M4: ágar + amido de mandioca; EF: esterilização física; EQ: esterilização química.

FIGURA 1 - Médias e erro-padrão da Intensidade de Verde referente à quantidade de luz no comprimento de onda de 650 nm que é absorvida pelas clorofilas localizadas nos cloroplastos das células do mesofilo das folhas do abacaxizeiro 'Vitória' oriundas de cultivo *in vitro*, após 90 dias de aclimatização em casa de vegetação. O valor máximo é 100 quando toda a luz é absorvida.



Legenda: M1: ágar; M2: amido de milho; M3: ágar + amido de milho; M4: ágar + amido de mandioca; EF: esterilização física; EQ: esterilização química.

FIGURA 2 - Médias e erro-padrão do Índice Fotossintético (PI) que quantifica a relação entre a luz emitida pela clorofila (fluorescência) em diferentes tempos, após uma adaptação da folha ao escuro, em mudas de abacaxizeiro 'Vitória' oriundas de cultivo *in vitro*, após 90 dias de aclimatização em casa de vegetação. Valores mais elevados desta variável mostram maior eficiência no uso da luz no fotossistema II localizado nos tilacoides dos cloroplastos.

CONCLUSÕES

Com base nos dados observados, conclui-se que é possível substituir total ou parcialmente o ágar pelos amidos de milho e mandioca como agentes geleificantes do meio de cultivo na fase de enraizamento *in vitro*. Do mesmo modo, pode-se substituir a autoclavagem dos meios e vidrarias pela esterilização química com NaClO, sem prejuízo ao crescimento e ao aparato fotossintético das mudas de abacaxizeiro 'Vitória'.

REFERÊNCIAS

- BOLHÀR-NORDENKAMPF, H.R.; LONG, S.P.; BAKER, N.R.; ÖQUIST, G.; SCHREIBERS, U.; LECHNER, E.G. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. **Functional Ecology**, London, v. 3, p.497-514, 1989.
- COSTA, F.H.S.; PEREIRA, M.A.A.; OLIVEIRA, J.P.; PEREIRA, J.E.S. Efeito de agentes geleificantes alternativos no meio de cultura no cultivo *in vitro* de abacaxizeiro e bananeira. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.31, n.1, p.41-46, 2007.
- ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W.; SILVA, L.C. Multiplicação *in vitro* de macieira (*Malus domestica* Borkh) cv. Galaxy: meio de cultura e agentes solidificantes alternativos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.10, n.3, p.297-302, 2004.
- FAO; FAOSTAT. **Agricultural statistics database**. World Agricultural Information Center. 2013. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/index.html#HOME>>. Acesso em: 25 jun. 2013.
- FERRI, V.C.; CENTELLAS, A.Q.; HELBIG, V.E.; FORTES, G.R.L. Uso do ágar, amido e ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* do porta enxerto de macieira MM111. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n.4, p.561-565, 1998.
- IBGE; SIDRA. **Quadro comparativo de produção de abacaxi**. 2013. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 25 jun. 2013.
- KELLER, P.; LÜTTGE, U. Photosynthetic light use by three bromeliads originating from shaded sites (*Ananas ananassoides*, *Ananas comosus* cv. Panare), and exposed sites (*Pitcairnia pruinosa*) in the medium Orinoco basin. **Biologia Plantarum**, Praha, v.49, n.1, p.73-79, 2005.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**. Wisconsin, v.15, p.473-497, 1962.
- NETTO, A.T.; CAMPOSTRINI, E. Plantas de *Coffea canephora* Pierre crescidas em confinamento do sistema radicular: teores dos pigmentos fotossintéticos, emissão da fluorescência da clorofila *a* e trocas gasosas. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v.52, n.299, p.125-139, 2005.
- PEREIRA, M.R. **Simplificação de meios de cultivo para propagação vegetativa *in vitro* do abacaxizeiro 'Vitória'**. 2011. 41 f. Monografia (Trabalho de Graduação em Agronomia) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2011.
- REINHARDT, D.H.R.; CUNHA, G.A.P. **A propagação do abacaxizeiro**. 2.ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 59p.
- RESH, H. **Hydroponic food productions**. 5th ed. California: Woodbridge Press Publishing Company, 1997. 527p.
- RIBEIRO, J. M.; TEIXEIRA, S.L. Multiplicação de *Sequoia sempervirens* em meio de cultura esterilizado com hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Brasília, v.13, p.356, 2007.
- SAEG. **Sistema para análises estatísticas**. Versão 9.1: 2007. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, Universidade Federal de Viçosa, 2007.
- SAWANTE, R.A.; TAWAR, P.N. Use of sodium hypochlorite as media sterilant in sugarcane micropropagation at commercial scale. **Sugar Technology**, New Delhi, v.13, n.1, p.27-35, 2011.
- SOUZA, A.S.; JUNGHANS, T.G. **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. 152p.
- TEIXEIRA, S.L.; RIBEIRO, J.M.; TEIXEIRA, M.T. Influence of NaClO on nutriente medium sterilization and on pineapple (*Ananas comosus* cv Smooth Cayenne) behavior. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, Boston, v.86, p.375-378, 2006.

TEIXEIRA, S.L.; RIBEIRO, J.M.; TEIXEIRA, M.T. Utilização de hipoclorito de sódio na esterilização de meio de cultivo para multiplicação *in vitro* de *Eucalyptus pellita* L. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 8, n.2, p.185-191, 2008.

TIWARI, A.K.; TRIPATHI, S.; LAL, M.; MISHRA, S. Screening of some chemical disinfectants for media sterilization during *in vitro* micropropagation of sugarcane. **Sugar Technology**, New Delhi, v.14, n.4, p.364-369, 2012.

VENTURA, J.A.; COSTA, H.; CAETANO, L.C.S. Abacaxi 'Vitória': uma cultivar resistente à fusariose. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.4, p.931-1233, 2006.