

Efeito da adubação foliar com KNO₃ na aclimatização de bromélia cultivada *in vitro*

Armando Reis Tavares¹; Patricia Giampaoli²; Shoey Kanashiro¹; Francismar Francisco Alves Aguiar¹; Edison Paulo Chu¹

¹Instituto de Botânica, C. Postal 3005, 01061-970 São Paulo-SP; ²Bolsista PIBIC-CNPq, Instituto de Botânica; atavares2005@yahoo.com.br

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o efeito da adubação foliar nitrogenada na aclimatização de bromélia cultivada *in vitro*, utilizaram-se mudas de *Aechmea blanchetiana*, que, após o processo de cultivo *in vitro*, foram transferidas para substrato constituído de areia e adubadas por pulverização de 3,0 mL, a cada 30 dias, com solução de KNO₃ nas concentrações de 0,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 g L⁻¹. Foram avaliadas as variáveis comprimento da maior folha e raiz, número de folhas, fitomassa fresca e seca das plantas e a porcentagem de plantas mortas no estágio inicial e após dois períodos de aclimatização (0; 60 e 120 dias). Concentrações maiores de KNO₃ foram eficientes, amenizando os efeitos do estresse durante o período da aclimatização de 60 dias. Entretanto, ao final do experimento (120 dias), as plantas submetidas à adubação foliar com KNO₃ apresentaram menor crescimento que o controle.

Palavras-chave: *Aechmea blanchetiana*, bromeliaceae, adubação, nitrato de potássio.

ABSTRACT

Effect of foliar KNO₃ fertilization in the acclimatization of bromeliads grown *in vitro*

The effect of foliar nitrogen fertilization, for an efficient acclimatization of *in vitro* propagation bromeliads was evaluated, using *Aechmea blanchetiana* plantlets which, after the *in vitro* propagation, were transferred to a sandy substratum and fertilized with 3.0 mL sprinkler irrigation of 0.0; 2.5; 5.0; 7.5 and 10.0 g L⁻¹ nitrates concentrations using KNO₃ as N source. Foliar length, the size of the larger root, leaves number, dry and fresh fitomass quantity and dead plants percentage after three times of acclimatization (0, 60 and 120 days) were evaluated. The results showed that higher KNO₃ concentrations were efficient to brighten up the stress effects. However, at the end of the experiment (120 days), only lower KNO₃ concentrations to an efficient acclimatization to this specific specie were necessary.

Keywords: *Aechmea blanchetiana*, bromeliaceae, fertilization, potassium nitrate.

(Recebido para publicação em 16 de dezembro de 2006; aceito em 23 de abril de 2008)

A família Bromeliaceae conta atualmente com 54 gêneros, aproximadamente 3000 espécies e milhares de híbridos, estando distribuída em três subfamílias: Pitcairnioideae, Tillandsioideae e Bromelioideae (Costa, 1996). São espécies nativas das Américas, em especial da Mata Atlântica, com exceção da *Pitcairnia feliciana*, que ocorre no continente africano (Leme & Marigo, 1993). Podem ser encontradas em todos os climas do planeta e existem espécies tanto na forma epífita, com raízes que favorecem sua fixação à planta hospedeira, quanto na forma terrestre, com raízes funcionais que permitem a fixação e a retirada de água e nutrientes do solo (Carvalho & Mercier, 2005).

O gênero *Aechmea*, pertencente à subfamília Bromelioideae, apresenta cerca de 200 espécies, em sua maioria de hábito epífita e com folhas em roseta formando tanque (Smith & Downs, 1979; Carvalho & Mercier, 2005). As espécies se caracterizam por serem herbáceas epífitas, perenes, rizomatosas e robustas

(Lorenzi & Mello-Filho, 2001). *A. blanchetiana* (Baker) L.B. Smith é uma das mais populares plantas decorativas e vem sendo extraída de seu ambiente natural em grande profusão para atender a demanda do mercado de plantas ornamentais (Lorenzi & Souza, 1998).

O atual e elevado interesse pelas bromélias pode ser explicado pela sua aparência exótica e bela, característica importante para o paisagismo e a comercialização de artigos ornamentais, e por sua rusticidade, não precisando de muitos cuidados para garantir sua sobrevivência (Carvalho & Mercier, 2005), tornando essas plantas de fácil manejo e utilização em pesquisas.

A micropropagação, ou cultivo *in vitro*, é a técnica que possibilita a produção em massa de mudas de variedades selecionadas, a partir de um pequeno número de explantes retirados da planta matriz (Willadino *et al.*, 2001). Seu uso abrange a introdução de novas espécies, atendimento da demanda de plantas e mudas de qualidade genética

superior, importância econômico-ecológico, caracterizando um alto valor comercial, além de ser amplamente utilizada para limpeza de vírus (Vinderhalter & Vinderhalter, 1994; Estrada-Luna *et al.*, 2001; Borghezani *et al.*, 2003).

Durante as fases da cultura *in vitro*, as plantas crescem sob condições especiais de redução das trocas gasosas, alta umidade do ar, baixa intensidade luminosa e uso de sacarose como fonte de energia. Estes fatores podem causar inibição da fotossíntese, estômatos anormais, maior acúmulo de reservas ou biomassa, dificultando a própria micropropagação e a aclimatização, algo que proporciona perdas elevadas de plantas na transferência para as condições *ex vitro* (Pospisilová *et al.*, 1999).

Após a micropropagação as plântulas passam pelo período de aclimatização por algumas semanas ou mesmo alguns meses e a regeneração de raízes durante a fase de aclimatização tende a produzir um sistema radicular mais desenvolvido e funcional

(Grattapaglia & Machado, 1990). Bosa *et al.* (2003) definem a aclimatização como o processo de adaptação da passagem das plantas desenvolvidas *in vitro* para o ambiente *ex vitro*. O suprimento hídrico normalmente é um fator limitante nessa fase (Pospisilová, 1999; Larcher, 2000; Hazarika, 2003) e condição importante para o sucesso da formação de mudas, durante a fase de aclimatização.

Debergh (1991) cita que durante a aclimatização, plantas obtidas pelo cultivo *in vitro* sofrem mudanças fisiológicas e morfológicas em respostas às alterações do ambiente e à utilização das reservas acumuladas ainda durante o período *in vitro*, sendo a principal forma da planta manter o seu crescimento durante as primeiras semanas em casa de vegetação.

A utilização de fontes de nitrogênio, como KNO_3 , NH_4NO_3 e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, vem se mostrando eficiente na otimização do desenvolvimento de plântulas cultivadas *in vitro*. García *et al.* (1994) e Kanashiro (2005), trabalhando com plântulas de oliveira e mudas de *A. blanchetiana*, respectivamente, observaram que maiores quantidades de nitrogênio foram assimiladas quando se utilizou como fonte o NH_4NO_3 e o $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Veloso *et al.* (2001) trabalhando com abacaxizeiro, afirmou que a adubação nitrogenada foi adequada.

O presente trabalho foi desenvolvido para avaliar o emprego de diferentes concentrações de adubo nitrogenado aplicado via foliar em espécie de bromeliácea ornamental, auxiliando na aclimatização eficiente para a espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecido do Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo.

Frutos de *A. blanchetiana* foram coletados de espécimes cultivados no Instituto de Botânica e armazenados em sacos de papel Kraft em condições de refrigeração a 6°C durante um ano. Os frutos foram abertos manualmente e suas sementes retiradas, lavadas em água destilada até a eliminação completa da mucilagem.

As sementes foram desinfestadas em solução 100% de hipoclorito de sódio com 2% de cloro ativo (m l^{-1}), acrescida de 2 gotas de Tween 20 por 100 mL, durante 30 minutos. A seguir, foram enxaguadas por três vezes em água destilada esterilizada. Após o tratamento de assepsia, as sementes foram inoculadas em frascos com capacidade volumétrica de 360 mL, contendo 50 mL de meio de cultura MS sólido (7 g L^{-1} ágar) acrescido com 30 g de sacarose, para germinação, e posterior cultivo *in vitro* em solução completa de Murashige & Skoog (1962) líquida (sem ágar) e com acréscimo de 30 g de sacarose. Os frascos foram dispostos em sala de crescimento a $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) e temperatura média de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas, sendo o intervalo de iluminação das 6 às 18 horas e incubadas durante 3 meses.

Após o cultivo *in vitro*, as plântulas foram lavadas em água corrente e transferidas para vasos plásticos com 0,45 L de capacidade contendo como substrato, areia lavada. Os vasos foram mantidos em estufa cobertas com telas plásticas tipo sombrite, com sombreamento de 50%, em estantes cobertas com plástico preto e irrigadas diariamente.

A fertilização foliar foi realizada semanalmente, durante todo o período de experimentação, sendo aspergidas com 3,0 mL da solução de KNO_3 (nitrato de potássio) nas concentrações 0,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 g L^{-1} , por vaso.

As coletas de plantas foram realizadas aos 0; 60 e 120 dias de aclimatização, totalizando 60 plântulas para cada coleta. As raízes das plantas coletadas no tempo zero foram retiradas, sendo, portanto, excluídas da avaliação. Foram avaliados o comprimento foliar, comprimento da maior raiz, número de folhas, fitomassa seca e fresca de plantas e porcentagem de plantas vivas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizados e constou de 5 tratamentos com quatro repetições (vasos) contendo 3 mudas, totalizando 180 plantas.

Foi realizada a análise de variância e regressão polinomial para todos os parâmetros avaliados em função do tempo de aclimatização e concentração de KNO_3 , considerando significativo quando os valores de p (probabilidade de teste aplicado) foram abaixo de 5%, utilizando-se programa estatístico SANEST (Zonta & Machado, 1991).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A coleta feita após 60 dias de aclimatização mostrou que a adubação com KNO_3 nas maiores concentrações auxiliou o processo de aclimatização das plantas transferidas da condição *in vitro* para *ex vitro*. Isso pode ser corroborado pelas curvas de crescimento obtidas nas menores concentrações, onde não ocorreu incremento no comprimento das folhas. Aos 120 dias de aclimatização os resultados do comprimento foliar foram semelhantes entre si, mas apresentaram valores maiores ou iguais aos observados nas mudas aclimatizadas por 60 dias (Figura 1a).

Bhugaloo (1998) trabalhando com mudas de abacaxi *ex vitro* fertilizadas com diferentes concentrações de nitrogênio, observou que, apesar da adubação nitrogenada ser essencial, é necessário calcular sua dose para que não se torne inibitória ao crescimento. As menores concentrações de KNO_3 causaram melhores efeitos aos 120 dias de aclimatização, entretanto concentrações maiores mostraram ser importantes aos 60 dias, amenizando os efeitos do estresse e mantendo o comprimento foliar igual ou maior que o observado nas mudas do controle. Rodrigues *et al.* (2004) observaram em mudas micropropagadas de *Alcantarea imperialis* o melhor desenvolvimento em plantas cultivadas em substrato com altos teores de nutrientes; entretanto Olmos (1992) citado por Rodrigues *et al.* (2004) observou maior crescimento em substratos com baixos teores de nutrientes.

O comprimento médio das folhas aumentou linearmente para as maiores doses de KNO_3 e de forma quadrática para as menores doses de adubo e o controle. Estes resultados mostram o efeito da fertilização foliar com KNO_3 , atenuando os efeitos deletérios causados pelo estresse durante a fase de aclimatização da espécie estudada. Bhugaloo (1998) observou que a utilização de nitrogênio era mais eficiente quando aplicado durante o crescimento foliar, antes do surgimento da inflorescência.

Na Figura 1b está representado o número total de folhas presentes nos explantes após diferentes tratamentos em 0; 60 e 120 dias. De maneira geral,

ao compararmos os tratamentos entre si observa-se que o número de folhas foi menor à medida que houve acréscimo na concentração de nitrogênio após 60 dias enquanto, após 120 dias de aclimatização o resultado foi oposto. No último período de aclimatização os tratamentos não mostraram serem significativos entre si. Resultados semelhantes foram obtidos por Santos *et al.* (2004), em plântulas de *Heliconia psittacorum* aclimatizadas, constatando que o número de folhas foi significativamente igual, independentemente do adubo utilizado. Gomes & Shepherd (2000) variando as concentrações de KNO₃ em meio MS no cultivo *in vitro* de *Simningia allagophylla*, planta ornamental da família Gesneriaceae, observaram que o número de folhas e o comprimento aumentaram com o uso de nitrato em relação a outros experimentos, porém não mostrou diferença significativa entre as concentrações utilizadas.

Houve aumento do comprimento das raízes ao longo da aclimatização. Os tratamentos não apresentaram diferenças significativas aos 60 e 120 dias, porém aos 120 dias, com o aumento da concentração do KNO₃ mostrou efeito deletério no crescimento (Figura 1c). Carvalho *et al.* (2005) estudando os efeitos de reguladores vegetais no enraizamento de *Ananas bracteatus* (Shultz) cv. *striatus* Hort *in vitro*, observaram enraizamento das plantas nos tratamentos sem reguladores, sugerindo que a presença de uma auxina associada à citocinina inibe a formação de primórdios. À medida que o número de folhas diminuiu (Figura 1b), os comprimentos da folha e da raiz (Figuras 1a e 1c) aumentaram. Segundo Crabbé & Barnola (1996) um rápido acúmulo de folhas jovens em plantas pode apresentar um efeito inibitório sobre o alongamento dos entrenós, anulando o crescimento por completo das plantas.

Aos 60 dias os maiores valores de fitomassa fresca foram observados em plantas tratadas com 10,0 g L⁻¹ de KNO₃. Tais valores foram inferiores aos das plantas tratadas com 0,0 e 2,5 g L⁻¹ de KNO₃ após 120 dias de aclimatização (Figura 2a). Os resultados finais estão de acordo com Grossi (2000) que, ao trabalhar com *A. nudicaulis*, observou que a menor concentração de nitrogênio (cultivo *in vitro*) promoveu maior produção de fitomassa fresca.

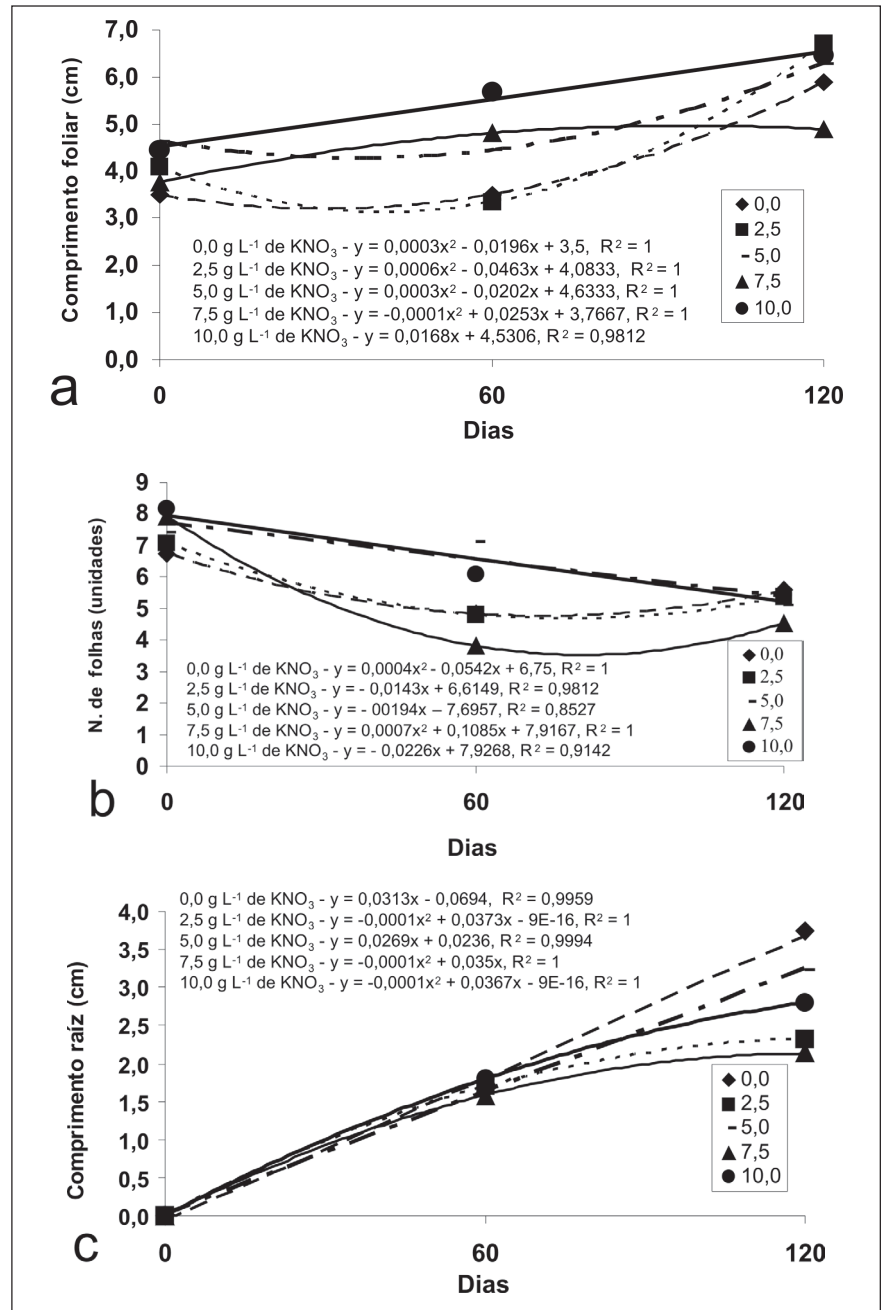


Figura 1. Efeito de diferentes concentrações de KNO₃ no comprimento foliar (a), número de folhas (b) e comprimento radicular (c) de plantas de *Aechmea blanchetiana* em aclimatização aos 0, 60 e 120 dias (Effect of different KNO₃ concentrations on length of the leaves (a), number of leaves (b) and length of the roots (c) of *Aechmea blanchetiana* plantlet on 0,60 and 120 days of acclimatization). São Paulo, IBT, 2006.

Os valores de fitomassa seca aumentaram ao longo do período de aclimatização em todos os tratamentos após 60 dias de cultivo. A análise da fitomassa seca indica que nesse período a concentração de 7,5 g L⁻¹ de KNO₃ tende a amenizar os efeitos do estresse causado pelo ambiente, uma vez que os valores obtidos nas plantas tratadas com o adubo nesta concentração mantiveram

valores maiores que os demais tratamentos nesse período (Figura 2b). Segundo Veloso *et al.* (2001) a adubação nitrogenada não teve efeito na produção e massa do fruto do abacaxi, porém, ao combiná-lo com doses isoladas de potássio, o rendimento melhorou. Todavia, no presente trabalho, os valores de fitomassa fresca e seca aumentaram após 60 dias de aclimatização.

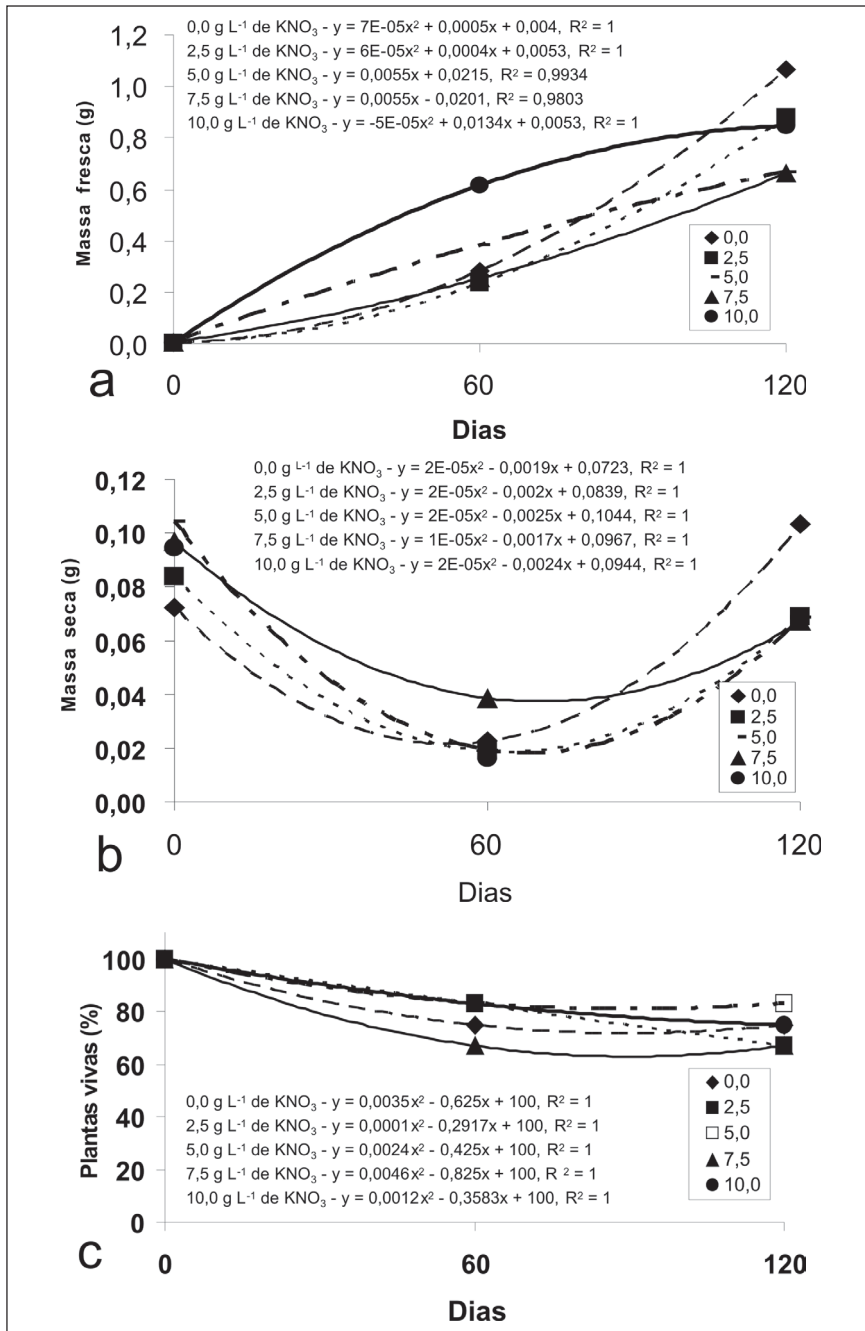


Figura 2. Efeito de diferentes concentrações de KNO₃ na massa fresca (a), massa seca (b) e porcentagem de plantas vivas (c) em plantas de *Aechmea blanchetiana* em aclimatização aos 0, 60 e 120 dias (Effect of different KNO₃ concentrations on fresh fitomass (a), dry fitomass (b) and live plants percentagem (c) of *Aechmea blanchetiana* plantlets on 0, 60 and 120 days of acclimatization). São Paulo, IBT, 2006.

Soratto et al. (2004) ao trabalharem com mudas de *Panicum dichotomiflorum*, afirmaram que a utilização de nitrogênio como fonte de adubo causa um decréscimo na concentração de açúcar da fitomassa seca, vindo a confirmar os resultados obtidos no primeiro período de aclimatização, quando as plantas estão sob maior

estresse. De acordo com o trabalho realizado por Paula et al. (1991) o nitrogênio, ao ser utilizado como adubo, correu para aumentar significativamente a produção de frutos de abacaxi, e, apesar de estimular o crescimento vegetativo das mudas, aumentou a necessidade de outros nutrientes para a planta, principalmente o potássio.

Durante a aclimatização a atividade fotossintética das mudas tende a cair, impedindo a produção de metabólicos até o momento que suas folhas já estão completamente adaptadas ao novo ambiente (Lacher, 2000; Raven et al., 2000; Kerbauy, 2004). O acúmulo de matéria seca vegetal é o resultado do mecanismo fotossintético, o qual incorpora matéria orgânica na planta (Bergonci et al., 2001). Segundo Benincasa (1988) 90%, em média, da matéria seca acumulada, pelas plantas ao longo do seu crescimento resultam da atividade fotossintética. No experimento aos 120 dias as plantas já parecem estar adaptadas ao novo ambiente devido ao aumento de sua fitomassa seca.

A sobrevivência manteve-se praticamente constante ao longo do período de aclimatização, sendo sempre superior a 80% para as plantas tratadas com 5,0 g L⁻¹ de KNO₃ e 65% para os demais tratamentos (Figura 2c), indicando que a espécie apresenta rusticidade e que o período de aclimatização não é um fator limitante na micropropagação da espécie.

A maioria dos dados mostra que as plantas tratadas nas maiores concentrações de nitrogênio apresentaram, ao final do experimento, os menores valores em todos os parâmetros avaliados. Endres & Mercier (2001) observaram que a utilização de uréia e de NH₄⁺ como fontes de nitrogênio geraram diferentes resultados na espécie *Ananas comosus* e *Vriesea gigantea* durante o cultivo *in vitro* dessas espécies. Nievola et al. (2001) afirmaram que o uso de uréia para bromélia com hábito formador de tanque aumenta a disponibilidade de nitrogênio, no entanto é preciso conhecer as necessidades nutricionais de cada espécie para evitar problemas com toxidez.

Durante o processo de aclimatização não foram observados sintomas degenerativos (clorose, queimadura nas pontas das folhas) como ocorreu nos experimentos de Rodrigues et al. (2004) em plantas de bromélia imperial (*Alcantarea imperialis*). Lima Filho & Malavolta (1997), estudando plantas de *Stevia rebaudiana* afirmaram que as plantas deficientes em nitrogênio apresentaram, além do desenvolvimento reduzido, folhas pequenas, pouca ramificação e amarelecimento generalizado.

Embora o substrato arenoso tenha sido satisfatório para a aclimatização da *A. blanchetiana*, Souza Jr. et al. (2001), trabalhando com plântulas

micropropagadas de abacaxi, mostrou que a combinação de areia, xaxim e húmus, proporcionou melhores respostas ao crescimento das mudas em condições *ex vitro*, podendo ser uma opção viável para a diminuição da taxa de mortalidade das mudas no processo de aclimatização.

A partir dos resultados obtidos é possível concluir que a utilização de KNO₃ como fonte de nitrogênio na adubação de mudas, mostrou-se eficiente durante o processo de aclimatização da espécie estudada. O uso de pequenas concentrações de nitrogênio é suficiente para o desenvolvimento dessa espécie para o cultivo *in vitro*, e foi suficiente no desenvolvimento durante cultivo *ex vitro*, porém maiores concentrações são eficientes na amenização dos efeitos estressantes causados pelo novo ambiente. O ideal seria utilizar as maiores concentrações de KNO₃ no início do processo de aclimatização e diminuir as doses gradativamente.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos funcionários do IB Helvécio de Oliveira, Maria da Conceição Maciel Oliveira e Luzia Rodrigues Scarpeta, na manutenção do experimento.

REFERÊNCIAS

- BENINCASA MMP. 1988. *Análise de crescimento de plantas (Noções básicas)*. Jaboticabal: FUNEP. 42p.
- BERGONCI JI; BERGAMASCHI H; SANTOS AO; FRANÇA S; RADIN B. 2001. Eficiência da irrigação em rendimento de grãos e matéria seca de milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 36: 949-956.
- BHUGALOO RA. 1998. *Effect of different levels of nitrogen on yield and quality of pineapple variety queen Victoria*. Mauritius: Food and Agricultural Research Council AMAS. 80 p.
- BORGHEZAN M; MORAES LKA; MOREIRA FM; SILVA AL. 2003. Propagação *in vitro* e avaliação de parâmetros morfofisiológicos de porta-enxertos de videira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38: 783-789.
- BOSA N; CALVETE EO; KLEIN VA; SUZIN M. 2003. Crescimento de mudas de gipsofila em diferentes substratos. *Horticultura Brasileira* 21: 514-519.
- CARVALHO ACPP; BRAGA EP; SANTOS MRA; MORAES JPS. 2005. Micropropagação de abacaxi ornamental (*Ananas comosus* var. bracteatus) por meio da indução ao estiolamento e regeneração de plântulas. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental* 11: 109-113.
- CARVALHO ACPP; MERCIER H. 2005. Bromeliaceae. In: TEREIO D; CARVALHO ACPP; BARROSO TCSF. (eds.) *Flores Tropicais*. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas. p. 59-83.
- COSTA A. 1996. *Estudo em Bromélias*. Rio de Janeiro: UNIRIO, 21p.
- CRABBÉ J; BARNOLA B. 1996. A new conceptual approach to bud dormancy in woody plants. In: LANG GA. (Ed.) *Plant dormancy: physiology, biochemistry and molecular biology*. London: CAB International, p. 83-113.
- DEBERGH PC. 1991. Acclimatization techniques of plants from *in vitro*. *Acta Horticulturae* 289: 291-300.
- ENDRES L; MERCIER H. 2003. Amino acid uptake and profile in bromeliads with different habits cultivated *in vitro*. *Plant Physiology and Biochemistry* 41:181-187.
- ESTRADA-LUNA AA; DAVIES JUNIOR FT; EGILLA JN. 2001. Physiological changes and growth of micropropagated chile ancho pepper plantlets during acclimatization and post-acclimatization. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 66: 17-24.
- GARCÍA JL; SARMIENTO R; TRONCOSO A; MAZUELOS C. 1994. Effects of the nitrogen source and concentration on N fractions in olive seedlings. *Acta Horticulturae* 356: 193-196.
- GOMES MAN; SHEPHERD SLK. 2000. Estudo de nutrição mineral *in vitro* relacionado à adaptação de *Sinningia allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae) às condições de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica* 23: 153-160.
- GRATTAPAGLIA D; MACHADO MA. 1990. Micropropagação In: TORRES AC; CALDAS LS. *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos e plantas*. Brasília: Embrapa-CNPq, p. 99-169.
- GROSSI F. 2000. *Aspectos da nutrição nitrogenada in vitro e atividade da redutase de nitrato em uma espécie de bromélia*. Piracicaba: USP-ESALQ. 116 p (Tese mestrado).
- HAZARIKA BN. 2003. Acclimatization of tissue-cultured plants. *Current Science* 85: 1704-1712.
- KANASHIRO S. 2005. Nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e o crescimento de plântulas de *Aechmea blanchetiana* (BAKER) L.B. Smith *in vitro*. Piracicaba: USP-ESALQ. 187 p. (Tese doutorado).
- KERBAUY GB. 2004. *Fisiologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 452 p.
- LARCHER W. 2000. *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: RiMa Artes e Textos. 472 p.
- LEME EMC; MARIGO LC. 1993. *Bromélias na Natureza (Bromeliads in nature)*. Rio de Janeiro: Marigo Comunicação Visual. 183 p.
- LIMA FILHO O.F.; MALAVOLTA E. 1997. Sintomas de desordens nutricionais em estévia *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertonii. *Scientia Agricola* 54: 53-61.
- LORENZI H; MELLO-FILHO LE. 2001. *As plantas tropicais de R. Burle Max*. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 488 p.
- LORENZI H; SOUZA HM. 1998. *Plantas Ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras*. Nova Odessa: Plantarum. 719 p.
- MURASHIGE T; SKOOG F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- NIEVOLA CC; MERCIER H; MAJEROWICZ N. 2001. Uréia: uma possível fonte de nitrogênio orgânico para as bromélias com tanque. *Bromélia* 6: 44-48.
- PAULA MB; CARVALHO VD; NOGUEIRA FD; SOUZA LFS. 1991. Efeito da calagem, potássio e nitrogênio na produção e qualidade do fruto do abacaxizeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 26: 1337-1343.
- PAULA MB; MESQUITA HA; NOGUEIRA FD. 1998. Nutrição e adubação do abacaxizeiro. *Informe Agropecuário* 19: 33-39.
- POSPÍŠILOVÁ J; TICHÁ I; KADLECEK P; HAISEL D; PLZÁKOVÁ S. 1999. Acclimatization of micropropagated to *ex vitro* conditions. *Biologia Plantarum* 42: 481-497.
- RAVEN PH; EVERT RF; EICHHORN SE. 2001. *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 906 p.
- RODRIGUES TM; PAIVA PDO; RODRIGUES CR; CARVALHO JG; FERREIRA CA; PAIVA R. 2004. Desenvolvimento de mudas de bromélia-imperial (*Alcantarea imperialis*) em diferentes substratos. *Ciência e Agrotecnologia* 28: 757-763.
- SANTOS MRA; TIMBÓ ALO; CARVALHO ACPP; MORAIS JPS. 2004. Avaliação de substratos e adubos orgânicos na aclimatização de plântulas de *Heliconia psittacorum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39: 1949-1951.
- SARMIENTO R; GARCIA JL; MAZUELOS C; LINAN J; TRONCOSO A. 1994. Effect of the form and concentration of N on the growth and mineral composition of olive seedlings. *Acta Horticulturae* 356: 156-161.
- SMITH LB; DOWNS RJ. 1979. Bromelioideae (Bromeliaceae) Flora Neotropica. *New York Botanical Garden* 14: 1493-2142.
- SORATTO RP; LIMA EV; SILVA BTR; BOARO CSF; CATANE AC. 2004. Nitrogen fertilization of fall panicum cultivars (*Panicum dichotomiflorum* Michx): Biochemical and Agronomical aspects. *Scientia Agricola* 61: 82-87.
- SOUZA JUNIOR EE; BARBOZA SBSC; SOUZA LAC. 2001. Efeitos de substratos e recipientes na aclimação de plântulas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill) cv. Pérola. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 31: 147-151.
- VELOSO CAC; OEIRAS AHL; CARVALHO EJM; SOUZA FRS. 2001. Resposta do abacaxizeiro à adição de nitrogênio, potássio e cálcio em latossolo amarelo do nordeste paraense. *Revista Brasileira de Fruticultura* 23: 396-402.
- VINDERHALTER B; VINDERHALTER D. 1994. True to the type *in vitro* propagation of *Aechmea fasciata* Baker. *Scientia Horticulture* 57: 253-63.
- WILLADINO L; PEREIRA JS; CÂMARA TR. 2001. Ajuste de protocolo para micropropagação de variedades selecionadas de acerola. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. *Anais do XVII CBF - Propagação*. Jaboticabal: UFPel. Disponível em: http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/propagacao/326.htm. Acessado em 20 de Janeiro de 2006.
- ZONTA EP; MACHADO AA. 1991. *Manual do SANEST: sistema de análise estatística para microcomputadores*. Pelotas: UFPel. 102 p.