

# MULTIPLICAÇÃO E ENRAIZAMENTO *in vitro* DE GABIROBEIRA

## MULTIPLICATION AND *in vitro* ROOTING OF *Campomanesia adamantium* CAMB.

MARIELI ROSSATO<sup>1</sup>, PEDRO VITOR SCHUMACHER<sup>2</sup>, ANTÔNIO PAULINO DA COSTA NETTO<sup>3</sup>,  
GEICIANE CINTRA DE SOUZA<sup>4</sup>, EDÉSIO FIALHO DOS REIS<sup>5</sup>, VANESSA CRISTINA STEIN<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Bióloga, Mestranda, Universidade Federal de Goiás (UFG), Regional Jataí, Campus Cidade Universitária, BR 364, km 195, 3800, CEP 75801-615, Jataí, GO, rossatomarieli@gmail.com

<sup>2</sup>Agrônomo, Mestrando, Universidade Federal de Goiás (UFG), Regional Jataí, Campus Cidade Universitária, BR 364, km 195, 3800, CEP 75801-615, Jataí, GO, pedro\_schumacher@hotmail.com

<sup>3</sup>Doutor em Biologia Funcional e Molecular, Universidade Federal de Goiás (UFG), Regional Jataí, Campus Cidade Universitária, BR 364, km 195, 3800, CEP 75801-615, Jataí, GO, apcnetto@gmail.com

<sup>4</sup>Mestre em Agronomia, Faculdade Unidas do Vale do Araguaia (UNIVAR), Rua Moreira Cabral, 1000, Setor Mariano, CEP 78600-000, Barra do Garça, MT, geici\_cintra@hotmail.com

<sup>5</sup>Doutor em Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Goiás (UFG), Regional Jataí, Campus Cidade Universitária, BR 364, km 195, 3800, CEP 75801-615, Jataí, GO, edesio7@brturbo.com.br

<sup>6</sup>Doutora em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ), Campus Divinópolis, Rua Sebastião Gonsalves Coelho, 400, Bairro Chanadour, CEP 35501-296, Divinópolis, MG, vanessa.stein@hotmail.com

### RESUMO

Objetivou-se avaliar a influência dos reguladores de crescimento BAP, AIB, ANA e AIA na propagação de Gabirobeira. Foram utilizados segmentos nodais provenientes de plântulas mantidas *in vitro* ao quarto subcultivo (subcultivos de 40 em 40 dias). Empregou-se meio de cultura WPM, acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 7 g L<sup>-1</sup> de ágar e 0,9 mM de PVP. Para a indução de brotações, foram adicionadas diferentes concentrações (0; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L<sup>-1</sup>) de BAP. Para a indução de rizogênese foram utilizadas diferentes concentrações (0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup>) de AIB, ANA ou AIA. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento com intensidade luminosa de 43 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e temperatura de 25 °C. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições (cada repetição com três tubos). Para análise de comprimento da maior brotação o experimento foi conduzido em esquema fatorial 2x5 (dois ambientes e cinco concentrações). Para a variável brotação, taxa de multiplicação e folhas não apresentaram diferença significativa, porém comprimento da maior brotação apresentou maior médias com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP quando induzida no escuro. Foi possível obter rizogênese somente aos 40 dias de cultivo, porém os resultados não foram significativos. A concentração de BAP indicada para indução de brotações é de 1,0 mg L<sup>-1</sup> mantida no escuro. Não foi possível obter protocolo eficiente para rizogênese.

**Palavras-chave:** Micropropagação, regulador de crescimento, segmentos nodais.

### ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the influence of growth regulators BAP, IBA, NAA and IAA in the propagation of *Campomanesia adamantium* CAMB. Nodal segments from seedlings maintained *in vitro* at the fourth subculture (subculture 40 to 40 days) were used. WPM culture medium

supplemented with 30 g L<sup>-1</sup> sucrose, 7 g L<sup>-1</sup> agar and 0.9 mM PVP was used. For shoot induction, different concentrations (0; 0.25; 0.5; 1.0 and 2.0 mg L<sup>-1</sup>) of BAP were tested. For root induction, different concentrations (0.5; 1.0; 1.5 and 2.0 mg L<sup>-1</sup>) of IBA, NAA and IAA were used. The explants were maintained in growth room with light intensity of 43 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> and a temperature of 25 °C. We used a completely randomized design with 5 replicates (each replicate with three tubes). For shoot length, analysis of the experiment was conducted in a factorial 2x5 (two environments and five concentrations). For the shoot variable, multiplication rate and leaves presented no significant difference, but the length shoot showed the highest average using 1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP when induced in the dark. Results for root number were not significant. The concentration indicated for shoot induction is 1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP maintained in the dark for elongation. No efficient protocol for root formation was obtained.

**Keywords:** Micropropagation, growth regulator, nodal segments.

### INTRODUÇÃO

A Gabirobeira (*Campomanesia adamantium* CAMB) é uma espécie frutífera nativa do Cerrado, que vem se destacando pelo alto potencial econômico, pois seus frutos são consumidos *in natura* ou na forma de sucos, doces, geleias e sorvetes (Bradiviesso et al., 2011). Além disso, são utilizados na indústria de bebidas devido a sua elevada acidez, presença de ácido ascórbico, minerais, hidrocarbonetos monoterpênicos, sendo estes fatores que conferem-lhe aroma cítrico (Vallilo et al., 2006).

(Recebido em 14 de abril de 2015 e aprovado em 18 de dezembro de 2015)

O uso extrativista dos frutos, que são obtidos diretamente das populações naturais e a destruição da vegetação nativa do Cerrado, causada pelo avanço das fronteiras agrícolas, vêm ocasionando um progressivo esgotamento dos recursos desse bioma. Somando-se a estes acontecimentos, a propagação natural e comercial da Gabirobeira tem sido dificultada pela recalitrância de suas sementes (Melchior et al., 2006). Outra dificuldade encontrada para a propagação desta espécie é a desuniformidade no enraizamento de estacas lenhosas e herbáceas, sendo que estacas lenhosas tiveram melhores porcentagens de enraizamento, porém dependem da época de colheita e as taxas de estacas mortas ainda são consideradas altas (Martins et al., 2015).

Vários estudos têm sido realizados visando propagação em larga escala de frutíferas do Cerrado, para serem utilizadas tanto no reflorestamento de áreas degradadas como para a implantação de lavouras comerciais (Pinhal et al., 2011). Porém, são poucas pesquisas publicadas com o uso desta técnica para a propagação de frutíferas nativas da família Myrtaceae, sendo que para o gênero em estudo não há informações sobre o comportamento e desenvolvimento *in vitro*.

O cultivo de células e tecidos é utilizado para a formação de mudas frequentemente mais uniformes, em pequeno espaço e curto período de tempo e com alta qualidade fitossanitária, a partir de plantas elite pela técnica de micropropagação. O importante durante esse processo é obter taxas satisfatórias de multiplicação com o mínimo de variação de explante para explante (Morais et al., 2012).

A técnica de micropropagação engloba algumas etapas, que vão do estabelecimento *in vitro*, enraizamento e posterior aclimatização da microplanta (Bastos et al., 2007). A composição do meio nutritivo e a combinação dos reguladores de crescimento são fatores fundamentais para a produção de plantas em larga escala (Smith, 2013). Entretanto, as respostas variam conforme a espécie, as classes, tipos e doses do regulador de crescimento utilizado (Pinhal et al., 2011). Nos processos de micropropagação,

os reguladores mais importantes são citocininas e auxinas, sendo a primeira utilizada na multiplicação de gemas laterais e a segunda na indução de rizogênese (Smith, 2013).

Visando o conhecimento de mecanismos propagativos da Gabirobeira objetivou-se obter protocolo de multiplicação e rizogênese *in vitro*, utilizando BAP na indução de brotações e AIB, ANA e AIA (ácido 3-indolacético) para a indução de raízes.

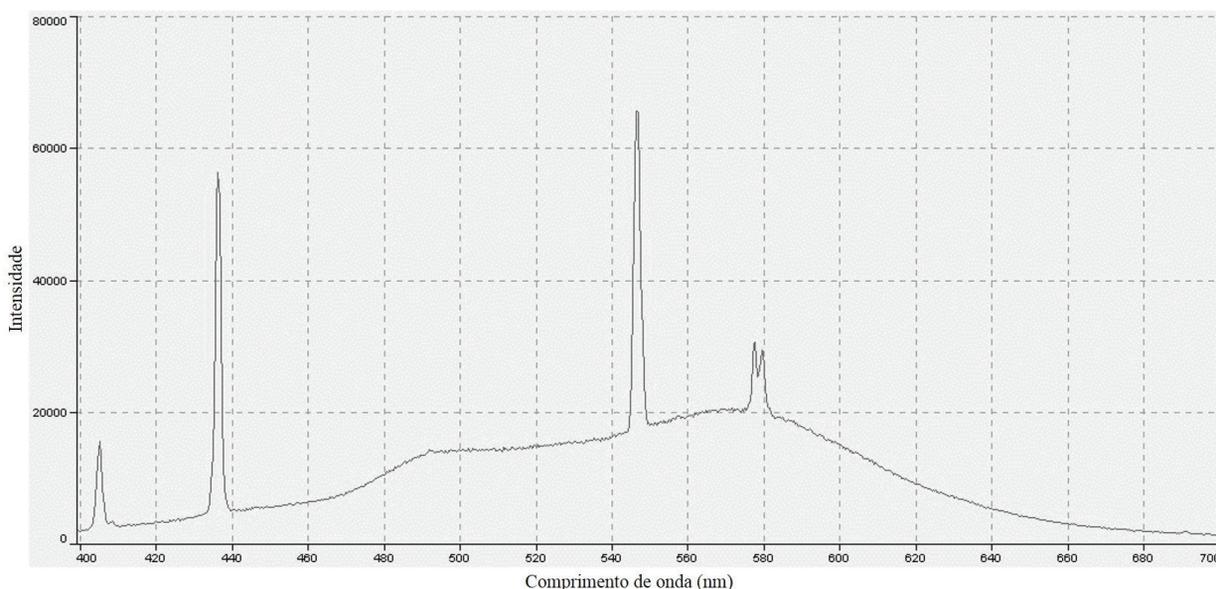
### MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados como explante, segmentos nodais de aproximadamente 1 cm, provenientes de plântulas de Gabirobeira, obtidas da germinação *in vitro*, subcultivadas ao quarto subcultivo (subcultivo de 40 em 40 dias) nas condições seguintes. O meio de cultura utilizado foi WPM (Wood Plant Medium) (Lloyd & McCown, 1980) solidificado com 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, contendo 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 0,9 mM de PVP (polivinilpirrolidona). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120 °C por 20 minutos.

#### Indução de brotações

Para a indução de brotações utilizou-se diferentes concentrações de BAP (0,0; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mg L<sup>-1</sup>) sendo os tratamentos mantidos em sala de crescimento com intensidade luminosa de 43 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Figura 1), a temperatura de 25 ± 2 °C. Aos 40 dias de cultivo avaliou-se o número de brotações, número de folhas, comprimento da maior brotação (mm), taxa de multiplicação e presença de calos na base do explante.

A taxa de multiplicação foi determinada dividindo-se o número de gemas laterais induzidas por explante, obtidos aos 40 dias de cultivo, pelo número de gemas laterais iniciais (duas gemas por explante), segundo metodologia descrita por Erig & Schuch (2002). Para análise de comprimento da maior brotação (mm) os experimentos foram mantidos também na ausência de luz.



**FIGURA 1** – Distribuição do espectro da radiação luminosa emitida na sala de cultivo do Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas UFG/Jataí – GO, utilizando espectroradiômetro USB2000+RAD (Ocean Optics, Dunedin, FL, USA).

### Indução de rizogênese

Para a indução de rizogênese, seguimentos nodais com cerca de 1cm de comprimento provenientes de plântulas *in vitro*, foram colocados em diferentes concentrações (0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup>) de AIB, AIA ou ANA. O experimento foi mantido em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C e com intensidade luminosa de 43 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Aos 40 e 80 dias de cultivo foram avaliados número de raízes, comprimento da maior raiz (mm) segundo metodologia proposta por Santos et al. (2006) e presença de calos na base do explante.

### Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 5 repetições para cada tratamento. Cada repetição foi constituída de 3 tubos de ensaio com um explante em cada tubo. Para análise dos dados de comprimento da maior brotação, o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x5 (dois ambientes e cinco doses). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias

analisadas pelo teste de Tukey a 5% de significância utilizando o programa estatístico Assistat (Silva & Azevedo, 2009). Devido a não obtenção de normalidade nos dados de rizogênese, submeteu-se os dados a análise descritiva, calculando-se a média dos tratamentos e aplicando o erro padrão da média.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Indução de brotações

A utilização de diferentes concentrações de BAP não apresentou diferença significativa para as variáveis número de brotos, taxa de multiplicação e número de folhas (Tabela 1).

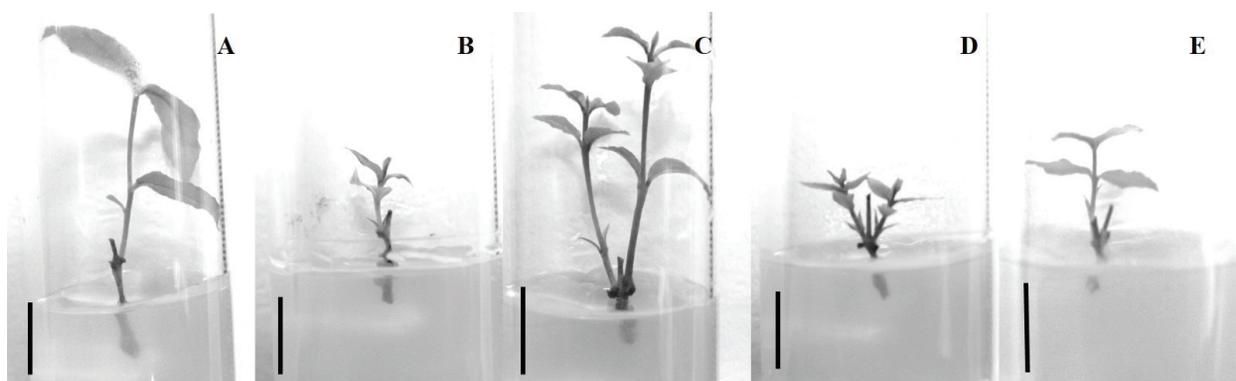
Todos os tratamentos induziram brotações, incluindo a testemunha (Figura 2). Corroborando com os dados de brotações, a taxa de multiplicação apresentou resultados semelhantes, indicando que a testemunha contém quantidades endógenas de citocinina capazes de induzir brotações e posterior multiplicação.

Para a multiplicação *in vitro* de *Campomanesia xanthocarpa* Berg., a melhor taxa de indução de brotações é obtida com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP (Scutti & Zanette, 2000).

**TABELA 1** – Número médio de brotos, taxa de multiplicação (T. M.) e número de folhas em segmentos nodais de Gabirobeira em meio de cultivo WPM contendo diferentes concentrações de BAP.

BAP (mg L <sup>-1</sup> )	Brotos	T. M.	Folha
0,0	1,06	2,60	3,93
0,25	1,13	2,40	2,26
0,5	1,20	3,30	3,40
1,0	1,33	4,43	4,80
2,0	0,8	2,10	2,33
CV (%)	44,88	48,22	53,25

Médias não apresentaram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**FIGURA 2** – Brotações induzidas em segmentos nodais de Gabirobeira em meio de cultivo WPM contendo diferentes concentrações de BAP (mg L<sup>-1</sup>): (A) 0,0; (B) 0,5; (C) 1,0; (D) 1,5 e (E) 2,0 (Barra: 1cm).

Nos resultados obtidos neste trabalho, as concentrações utilizadas não apresentaram diferenças significativas, porém a utilização de altas dosagens hormonais podem inibir a indução de brotações e a formação de folhas.

Diferentes concentrações de BAP induziram brotações em *Eugenia pyriformis* Cambess. No entanto 1,0 mg L<sup>-1</sup> dessa citocinina é indicada para a propagação, uma vez que se mostrou eficiente produzindo dois brotos por explante com uma média de 7 gemas laterais por explante, obtendo ao final uma taxa de multiplicação de 3,5, resultado semelhante ao obtido neste trabalho (Nascimento et al., 2008). Para a multiplicação de *Eugenia uniflora* L., 1,13 mg L<sup>-1</sup> de BAP apresentou melhores resultados para a indução de brotações quando comparados com os reguladores de crescimento zeatina e isopenteniladenina, induzindo cerca de 2 brotações e em média 3,93 gemas por explante (Souza et al., 2008).

Para a variável comprimento da maior brotação, os tratamentos mantidos no escuro diferiram estatisticamente do ambiente com luz nas concentrações de 1,0 e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP (Tabela 2). Essa metodologia é empregada para que ocorra estiolamento das brotações, causando assim um alongamento dos entrenós.

Quando as brotações são mantidas no escuro ocorre um crescimento geralmente alongado (estiolamento) com coloração amarelo ou branca devido à falta de clorofila (Hartmann & Kester, 1990). Com isso, é esperado um comprimento maior das brotações induzidos sem a interferência da luz, principalmente pela concentração hormonal e pela translocação da maior parte de seus recursos metabólicos para crescerem em altura, em busca de luz (Dardengo et al., 2013). Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que a utilização desta técnica é adequada, visto que as maiores doses de BAP empregadas para a indução de brotações apresentaram um comprimento maior das brotações

no escuro, possibilitando um crescimento maior do entrenó facilitando a sua posterior multiplicando, evitando assim maior oxidação do explante pelo seu tamanho.

Em todos os tratamentos utilizando concentrações de BAP foi possível observar a formação de calos na base do explante concluindo que a concentração endógena de auxina juntamente com a concentração exógena de BAP resultaram na proliferação de células não diferenciadas. De acordo com os resultados obtidos, foi possível verificar que os tratamentos mantidos no escuro tiveram menor formação de calos na base do explante, indicando que os outros tratamentos podem ter sido prejudicados pela competição gerada entre

as brotações e a multiplicação celular de células não diferenciadas.

### Indução de rizogênese

Foi possível observar a protrusão de raízes somente aos 80 dias de cultivo. Os tratamentos com 2,0 mg L<sup>-1</sup> de AIB, 2,0 mg L<sup>-1</sup> de AIA e a testemunha obtiveram as maiores médias do número de raízes (Tabela 3). Para o comprimento da maior raiz, as concentrações que obtiveram maiores médias foram 2,0 mg L<sup>-1</sup> de AIB, 1,0 mg L<sup>-1</sup> de AIB e a testemunha (Tabela 3). A utilização de explantes provenientes de plântulas mantidas *in vitro* após a germinação pode ser o motivo da obtenção de baixas taxas de rizogênese (Figura 3).

**TABELA 2** – Comprimento médio da maior brotação (mm) em segmentos nodais de Gabirobeira em meio de cultura WPM contendo diferentes concentrações de BAP em duas condições ambientais.

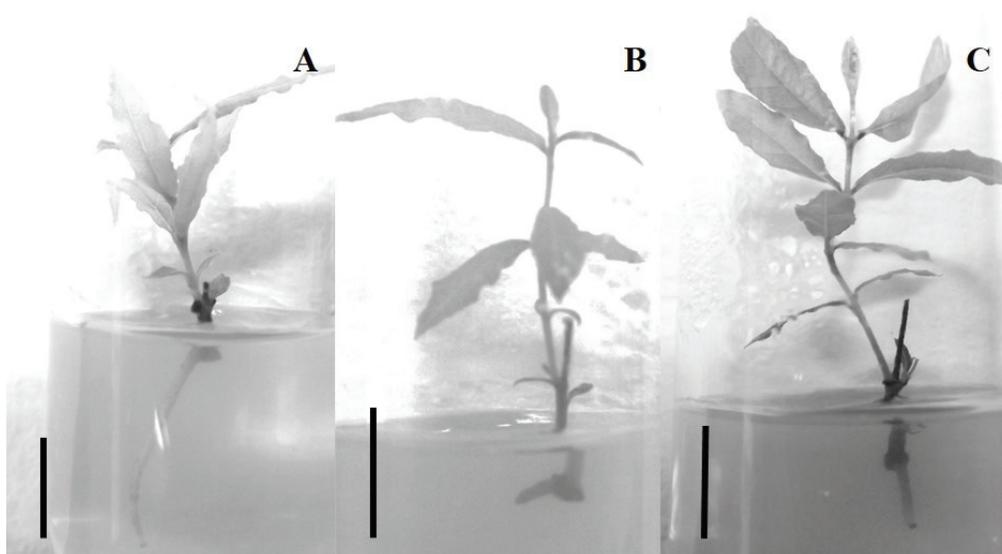
BAP (mg L <sup>-1</sup> )	Ambiente	
	Luz	Escuro
0,0	10,40 aA	6,39 bA
0,25	8,39 aA	5,40 bA
0,5	10,08 aA	12,90 abA
1,0	6,64 aB	21,39 aA
2,0	6,66 aB	14,78 abA
CV (%)	57,30	

Médias seguidas por letras diferentes, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**TABELA 3** – Média do número de raízes e comprimento da maior raiz em segmentos nodais de gabirobeira em meio de cultura WPM com diferentes concentrações de AIB, AIA e ANA.

Regulador de crescimento	Concentração mg L <sup>-1</sup>	Núm. de raízes	Comprimento
AIB	Controle	0,26 ± 0,12*	2,76 ± 1,61
	0,5	0 ± 0	0 ± 0
	1,0	0,13 ± 0,08	2,35 ± 1,44
	1,5	0,13 ± 0,13	1,22 ± 1,22
	2,0	0,46 ± 0,24	4,14 ± 1,96
AIA	0,5	0 ± 0	0 ± 0
	1,0	0,06 ± 0,06	0,36 ± 0,36
	1,5	0,13 ± 0,08	1,03 ± 0,66
	2,0	0,33 ± 0,18	1,06 ± 0,65
ANA	0,5	0 ± 0	0 ± 0
	1,0	0,06 ± 0,06	0,41 ± 0,41
	1,5	0 ± 0	0 ± 0
	2,0	0 ± 0	0 ± 0

\*Erro padrão da média.



**FIGURA 3** – Raízes induzidas em segmentos nodais de gabirobeira em meio de cultivo WPM contendo diferentes concentrações de reguladores de crescimento: (A)  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB (B)  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de AIA e (C) Testemunha (Barra: 1 cm).

A utilização de explantes jovens no processo de enraizamento é mais eficiente porque os explantes respondem melhor aos estímulos hormonais do que os explantes mais velhos (Pierik et al., 1997). Já a vantagem da utilização de explantes oriundos das brotações induzidas e alongadas pelo processo de multiplicação é a menor lignificação dos tecidos, facilitando assim a protrusão de raízes adventícias (Carvalho et al., 2009).

A concentração de  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de AIA que havia obtido uma das maiores médias para o número de raízes apresentou comportamento possivelmente fitotóxico, uma vez que o comprimento da raiz diminuiu quando comparada com as dosagens que induziram maior número de raízes. Este resultado pode ser explicado pois, durante o processo de formação radicular, o explante necessita de auxina para as fases de indução e iniciação, porém para a fase de crescimento (alongação) as raízes podem ser inibidas na presença de certas dosagens de auxina (Souza & Pereira, 2007).

Foi possível observar a formação de calos na base dos explantes em todos os tratamentos, exceto na testemunha. Esse é um dos principais problemas durante a elaboração de protocolos de micropropagação, pois as

massas celulares acabam comprometendo a protrusão de raízes e também de brotações. Além do problema exposto, estas estruturas podem interferir na funcionalidade do sistema radicular, comprometendo principalmente o processo de aclimatização das plantas (Souza & Pereira, 2007).

### CONCLUSÕES

Para a indução de brotações em gabirobeira é indicado a utilização de meio WPM suplementado  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP mantidas no escuro para que ocorram o alongamento dos entrenós.

Não foi possível estabelecer um protocolo eficiente para a indução de rizogênese.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASTOS, L. P.; MOREIRA, M. J. S.; COSTA, M. A. P. C.; HANSEN, D. S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. S. Cultivo *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa*). *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2):1122-1124, 2007.
- BORGES, S. R.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; LOPES, A. P.; OTONI, W. C.; TAKAHASHI, E. K.; MELO, L. A. Estabelecimento *in vitro* de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. *Ciência Florestal*, 22(3):605-116, 2012.

- BARDIVIESSO, D. M.; MARUYAMA, W. I.; REIS, L. L.; MDESTO, J. H.; REZENDE, W. E. Diferentes substratos e recipientes na produção de mudas de gabioba (*Campomanesia pubescens* O.Berg.). **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, 18(1):52-59, 2011.
- BRONDANI, G. E.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F.; WENDLING, I.; HORNIG, J. Estabelecimento, multiplicação e alongamento *in vitro* de *Eucalyptus benthamii* Maidem & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maidem. **Revista Árvore**, 33(1):11-19, 2009.
- BRONDANI, G. E.; ONDAS, H. W. W.; BACCARIN, F. J. B.; GONÇALVES, A. N.; ALMEIDA, M. Micropropagation of *Eucalyptus benthamii* to form a clonal micro-garden. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, 48:478-487, 2012.
- CARVALHO, A. C. P. P.; PINHEIRO, M. V. M.; DIAS, G. M. G.; MORAIS, J. P. S. Multiplicação *in vitro* de abacaxi ornamental por estiolamento e regeneração de brotações. **Horticultura Brasileira**, 27(1):103-108, 2009.
- DARDENGO, M. C. J. D.; SOUSA, E. F.; REIS, E. F.; GRAVINA, G. A. Crescimento e qualidade de mudas de café conilon produzidas em diferentes recipientes e níveis de sombreamento. **Coffe e Science**, 8(4):500-509, 2013.
- ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de macieira CV. Marubakaido: efeito da orientação do explante no meio de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 24(2):293-295, 2002.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E. **Propagation de plants: pricipios y practicas**. México: Continental, 1990. 760p.
- LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. **Journal Combined Proceedings, International Plant Propagators Society**, 30:421-427.
- MARTINS, W. A.; MANTELLI, M.; SANTOS, S. C.; COSTA NETTO, A. P.; PINTO, F. Estaquia e concentração de reguladores vegetais no enraizamento de *Campomanesia adamantium*. **Revista de Ciências Agrárias**, 38(1):58-64, 2015.
- MELCHIOR, S. J.; CUSTÓDIO, C. C.; MARQUES, T. A.; MACGADO NETO, N. B. Colheita e armazenamento de sementes de gabioba (*Campomanesia adamantium* Camb. – Myrtaceae) e implicações na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, 28(3):141-150, 2006.
- MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q.; SILVA, S. M.; RESENDE, R. F.; SILVA, A. S. Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 14(1):110-121, 2012.
- NASCIMENTO, A. C.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; PORTO, J. M. P.; NOGUEIRA, G. F.; SOARES, F. P. BAP e AIB no cultivo *in vitro* de *Eugenia pyriformis* Cambess. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, 6(2):223-228, 2008.
- NAVROSKI, M. C.; REINIGER, L. R. S.; PEREIRA, M. O.; CURTI, A. R.; PAIM, A. F. Alongamento *in vitro* de genótipos de *Eucalyptus dunnii* Maidem. **Cerne**, 19(4):545-550, 2013.
- OLIVEIRA, L. S.; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, 33(76):439-453, 2013.
- PIERIK, R. L. M.; OOSTERKAMP, J.; EBBING, M. A. C. Factors controlling adventitious root formation of explants from juvenile and adult *Quercus robur* "Fastigiata". **Scientia Horticulturae**, 71(1-2):87-92, 1997.
- PINHAL, H. F.; ANASTÁCIO, M. R.; CARNEIRO, P. A. P.; SILVA, V. J.; MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q. Aplicações da cultura de tecidos vegetais em fruteiras do Cerrado. **Ciência Rural**, 41(7):1136-1142, 2011.
- RAI, M. K.; JAISWAL, V. S.; JAISWAL, U. Shoot multiplication and plant regeneration of guava (*Psidium guajava* L.) from nodal explants of *in vitro* raised plantlets. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, 17(1):29-38, 2009.
- SANTOS, B. R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, D. P. C.; MARTINOTTO, C.; SOARES, F. P.; PAIVA, P. D. O. Micropropagação de pequi ( *Caryocar brasiliensis* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, 8(2):293-296, 2006.
- SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, 4(1):71-78, 2002.

SCUTTI, M. B.; ZANETTE, F. Gabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) vegetative propagation *in vitro* and by cutting. **Scientia Agraria**, 1(1-2):75-82, 2000.

SMITH, R. H. **Plant Tissue Culture – Techniques and experiments**. Texas: College Station, 2013. 188p.

SOUZA, A. V.; PEREIRA, A. M. S. Enraizamento de plantas cultivadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 9(4):103-117, 2007.

SOUZA, J. A.; SCHUCH, M. W.; DONINI, L. P.; RIBEIRO, M. F. Tipos e concentrações de citocinina na multiplicação *in vitro* de pitangueira. **Ciência Rural**, 38(7):2046-2048, 2008.

VALILLO, M. I.; LAMARDO, L. C. A.; GABERLOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessedes) O.BERG. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, 26(4):805-810, 2006.