



ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

TIPO DE EXPLANTES, CONCENTRAÇÃO DE TDZ E EFEITO DE DIFERENTES REGULADORES DE CRESCIMENTO NA ORGANOGÊNESE *IN* *VITRO* DE *Campomanesia adamantium*

Ademir Goelzer¹; Thamiris Gatti Déo¹; Leandro Darc da Silva²; Claudia Roberta Damiani³

UFGD-FCBA, C. Postal 533, 79804-970 Dourados-MS, E-mail: ademirgoelzer2008@hotmail.com

¹Bolsista PIVIC/UFGD/CNPq; ²Mestrando em Biologia Geral – Bioprospecção, FCBA/UFGD, Bolsita FUNDECT/MS, E-mail: leandrodarc@yahoo.com.br; ³Profª. Dra. FCBA/UFGD, Dourados-MS, E-mail: claudiadamiani@ufgd.edu.br

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade organogênica *in vitro* de guavira (*Campomanesia adamantium*). Os experimentos foram desenvolvidos nos Laboratórios da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS. Para atingir o objetivo proposto realizaram-se dois experimentos distintos, utilizando como fonte de explantes, microplantas previamente estabelecidas *in vitro*. No primeiro experimento avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de TDZ (0; 5,0; 10; 15 e 20 μM) na organogênese *in vitro* a partir de explantes foliares. Todos os tratamentos foram suplementados com 1,0 μM de ANA. No segundo experimento foram testados dois tipos de explantes (raiz e entre nó) e o efeito de TDZ (5,0 μM), ANA (1,0 μM) e a combinação dos mesmos nas respectivas concentrações. Em ambos os experimentos, as avaliações foram realizadas aos 56 dias de cultivo, sendo avaliadas as variáveis: porcentagem de explantes oxidados, porcentagem de explantes que formaram calo e número de brotações emitidas por explante. No primeiro experimento concluiu-se que o uso de TDZ, independentemente da concentração testada, promove um aumento da formação de calos se comparado aos explantes cultivados em meio sem o regulador. Dentre as concentrações testadas de TDZ, nenhuma favoreceu o desenvolvimento de brotações e de modo geral, os dados obtidos nos diferentes tratamentos não diferem entre si estatisticamente no que diz respeito à oxidação dos explantes. No segundo experimento concluiu-se que o desenvolvimento de calos é maior em explantes internodais se comparado aos explantes radiculares, principalmente em meio suplementado com TDZ, mesmo que combinado com ANA. Explantes obtidos de raiz apresentaram valores elevados de oxidação, o que não foi observado em explantes caulinares. Nas concentrações testadas e durante o período de avaliação, nenhum dos tratamentos testados promoveu a formação de brotações.

Palavras-chave: Cultivo *in vitro*, Guavira, Calo.

INTRODUÇÃO

A *Campomanesia adamantium* (Camb.) O. Berg é uma espécie pertencente à família *Myrtaceae*, uma planta frutífera nativa que existe em grande quantidade em regiões do

Cerrado de Mato Grosso do Sul. Os frutos são encontrados entre os meses de novembro e janeiro, em grandes quantidades por plantas, sendo utilizados de forma *in natura*, como também na indústria de alimentos ou como flavorizantes na indústria de bebidas por possuir alto teor de acidez. São compostos por ácido ascórbico (vitamina C), minerais, fibras alimentares e hidrocarbonetos monoterpênicos. Os frutos mantêm a vida útil prolongada quando armazenados sob refrigeração e perdem o vigor rapidamente em temperatura ambiente durando uma média de seis dias caso não permanecerem revestidos (CAMPOS et al., 2012; DRESCH et al., 2012; SCALON et al., 2012).

Com o surgimento de novas técnicas de cultura de tecidos vegetais, o processo de propagação recebeu contribuições significativas. O método mais utilizado é o da micropropagação *in vitro*, uma forma de propagação assexuada com segregação genética reduzida a qual permite a obtenção de plantas livres de patógenos, além de outros benefícios como a produção em larga escala e em períodos de tempo pequenos, a produção de plantas uniformes independentemente da época do ano (ARRIGONI-BLANK et al., 2011; MORAES et al., 2010). Outra técnica de cultivo *in vitro* empregada é a organogênese *in vitro*. A organogênese pode ser direta quando ocorre a partir de tecidos do explante ou de pequenas proliferações destes, acarretando na formação de brotos, ou pode ser indireta no qual o explante necessariamente passa pela fase de calogênese e a partir de calos são gerados brotos (REZENDE et al., 2008).

A organogênese direta permite a regeneração dos brotos *in vitro*, podem ser derivados a partir de meristemas de plantas, sendo benéfica quando relacionada aos termos de estabilidade genética. A regeneração de plantas *in vitro* é considerada complexa nos quais estão envolvidos diversos fatores externos e internos como, por exemplo, o genótipo, a fonte e as condições fisiológicas em que se encontra o explante, a associação de reguladores vegetais exógenos (em particular auxinas e citocininas), as características do meio de cultura empregado e as condições do ambiente (LIMA et al., 2012; HUSSEIN e AQLAN, 2011).

Existem substâncias presentes naturalmente nas plantas, como os hormônios, responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento. Todavia para a realização do cultivo *in vitro* também se faz uso destes, por meio de análogos sintéticos, tidos como reguladores de crescimento, que são acrescentados ao meio de cultura e irão interferir no crescimento e na organogênese *in vitro* (SOARES et al., 2007).

Utiliza-se nos trabalhos de regeneração de plantas, estes reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura, e em grande parte dos trabalhos, quando se busca a regeneração de gemas e brotos com quebra da dominância apical, utiliza-se uma citocinina.

Um dos reguladores de crescimento comumente empregado inicialmente como desfolhante em algumas espécies (algodão) e que tem apresentado grande êxito é o thidiazuron (TDZ) o qual possui eficiência na morfogênese *in vitro*. Esta citocinina tem induzido a proliferação de múltiplos brotos em culturas como arroz, feijão, cevada e trigo. Existem relatos a respeito da capacidade do TDZ induzir gemas adventícias em um grande número de espécies desde o ano de 1988. Todavia, estudos recentes têm mostrado que o TDZ é capaz de atender tanto as exigências de citocininas quanto auxinas nas respostas regenerativas, dependendo da espécie de planta que for aplicado (ACHARJEE et al., 2012; REY et al., 2010) .

O thidiazuron aumenta a propagação vegetativa *in vitro* tanto pelo desenvolvimento da embriogênese somática quanto pela indução de organogênese em uma grande variedade de espécies e outros efeitos fisiológicos em diferentes vegetais conhecidos como eficiência na germinação de sementes, superação de dormência, indução e estimulação das brotações, desenvolvimento e crescimento dos cotilédones, formação de tricomas e aparição de estômatos em peças florais (GUO et al., 2012; GRANER et al., 2013; ROY et al., 2012).

As plantas, no seu desenvolvimento, utilizam sinalizadores para atingir determinados padrões de crescimento os quais apresentam determinadas respostas dependendo da qualidade de luz, assim, os vegetais crescem sob uma região específica no espectro visível e apresentam morfologia e fisiologia característica dentre as variações apresentadas nesse espectro. Em salas de crescimento as lâmpadas fluorescentes presentes emitem luz branca de similaridade espectral entre as bandas, que interfere no desenvolvimento das plantas por meio de alterações fotomorfogênicas que podendo ser observadas nas formações dos tecidos do mesófilo e na ineficiência do mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos prejudicando o seu funcionamento. Estudos mostram que dependendo da variação da qualidade da luz pode ocorrer a manipulação no crescimento *in vitro* de diversas espécies, de maneira alternativa à adição de reguladores de crescimento ao meio de cultura. Outras alterações acontecem na estrutura da anatomia das folhas devido à variação da qualidade da luz, principalmente nos momentos de expansão foliar, como alto grau de plasticidade anatômico e fisiológico (BRAGA et al., 2009).

A propagação da guavira (*Campomanesia adamantium* Cambess. O. Berg) é realizada naturalmente através de sementes. No entanto, a propagação sexuada desta espécie é limitada, pois, as sementes apresentam recalcitrância e perda do poder germinativo, necessitando ser semeadas logo após a sua extração dos frutos (CARMONA et al., 1994; MELCHIOR et al., 2006; SCALON et al., 2009).

Mediante a dificuldade de obtenção de mudas de guavira através de sementes, este trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade organogênica de diferentes tipos de explantes sob diferentes tipos de reguladores (5,0 μM de TDZ e 1,0 μM de ANA) isolados ou combinados entre si e concentrações distintas de thiadizuron no meio de cultura, durante o desenvolvimento das brotações no processo de organogênese *in vitro* de guavira, *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg., visando à propagação assexuada de guavira.

MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal foi obtido de plantas de guavira, *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, cultivadas no Horto de Plantas Medicinais da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da UFGD. Os experimentos foram desenvolvidos nos Laboratórios de Botânica e Multiuso, da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS, no período de agosto de 2013 a junho de 2014.

Este trabalho foi dividido em dois experimentos conforme descritos a seguir.

Experimento 1: Efeito de diferentes concentrações de TDZ sobre a organogênese *in vitro* em folhas de guavira (*Campomanesia adamantium*).

O material vegetal utilizado consistiu em folhas de explantes de guavira previamente estabelecidas *in vitro*. O experimento consistiu em cinco tratamentos, os quais foram dispostos em diferentes concentrações de TDZ (thiadizurone (N-fenil-N-1,2,3-tiazol-5-tiuréia)), 0; 5; 10; 15 e 20 μM e todos os tratamentos suplementados com 1,0 μM de ANA (ácido naftaleno acético). Cada tratamento foi constituído de quatro repetições, sendo cada repetição composta por cinco tubos de ensaio contendo uma folha com aproximadamente 1,0 x 0,7cm. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. As folhas utilizadas como explantes foram excisadas na altura da nervura central, na posição abaxial e inoculadas em meio MS (MURASHIGE E SKOOG, 1962), previamente preparado e autoclavado, acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de inositol e 6 g L⁻¹ de ágar, pH 5,8 (ajustado após a adição do ágar). Após a distribuição nos frascos de cultivo contendo 30 mL de meio de cultivo, foram autoclavados a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. O meio de cultura foi suplementado com os reguladores de crescimento de acordo com cada tratamento.

Após a inoculação, os tubos com os explantes foram vedados e mantidos no escuro por um período de 7 dias em câmara de crescimento com temperatura de 25 \pm 2°C e após este período foram mantidos sob luminosidade de 45 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas.

As avaliações foram realizadas aos 56 dias e as variáveis analisadas foram: porcentagem de explantes oxidados, porcentagem de explantes que formaram calo e número de brotações emitidas por explante.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas por regressão polinomial, com o uso do programa estatístico Winstat (MACHADO et al., 1999). Os dados obtidos em porcentagem foram transformados em arco seno da raiz quadrada de x e os dados obtidos em número foram transformados em raiz quadrada de (x+0,5).

Experimento 2: Organogênese *in vitro* de guavira utilizando diferentes tipos de explantes e diferentes reguladores de crescimento.

O material vegetal utilizado foi obtido de plântulas previamente germinadas *in vitro*. Para a realização dos experimentos foram utilizados dois tipos de explantes (raiz e entre nó com aproximadamente 1,0 cm) e dois reguladores hormonais, TDZ (5,0 μM), ANA (1,0 μM) e a combinação destes, TDZ + ANA (nas respectivas concentrações), obtendo-se um fatorial 2x3, totalizando seis tratamentos. Cada tratamento foi constituído de cinco repetições, sendo cada repetição composta por um frasco de cultivo contendo cinco explantes. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado.

Os explantes foram inoculados em meio MS (MURASHIGE E SKOOG, 1962), previamente preparado e autoclavado, acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de inositol e 6 g L⁻¹ de ágar e pH 5,8 (ajustado após a adição do ágar). Após a distribuição nos frascos de cultivo contendo 30 mL de meio de cultivo, foram autoclavados a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. O meio de cultura foi suplementado com os reguladores de crescimento de acordo com cada tratamento.

Após a inoculação, os frascos com os explantes foram vedados e mantidos no escuro por um período de 7 dias em câmara de crescimento com temperatura de 25 \pm 2°C e após este período foram mantidos sob luminosidade de 45 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas.

Aos 56 dias de cultivo foram avaliadas as variáveis numéricas: porcentagem de explantes oxidados, porcentagem de explantes que formaram calo e número de brotações emitidas por explante.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro, com o uso do programa estatístico Winstat (MACHADO et al., 1999). Para a análise, os dados obtidos foram transformados em raiz quadrada de X + 0,5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1: Efeito de diferentes concentrações de TDZ na organogênese *in vitro* de guavira (*Campomanesia adamantium*).

Nas condições em que o experimento foi conduzido e comparando as médias por regressão polinomial, os dados obtidos com relação à formação de calo nos explantes não diferiram estatisticamente entre as diferentes concentrações de TDZ (Figura 1). Mesmo não havendo diferenças estatísticas entre os tratamentos observou-se que o uso de 20 μM de TDZ se comparado ao controle, aumentou em 25% a formação de calos, respectivamente, 85 e 60%.

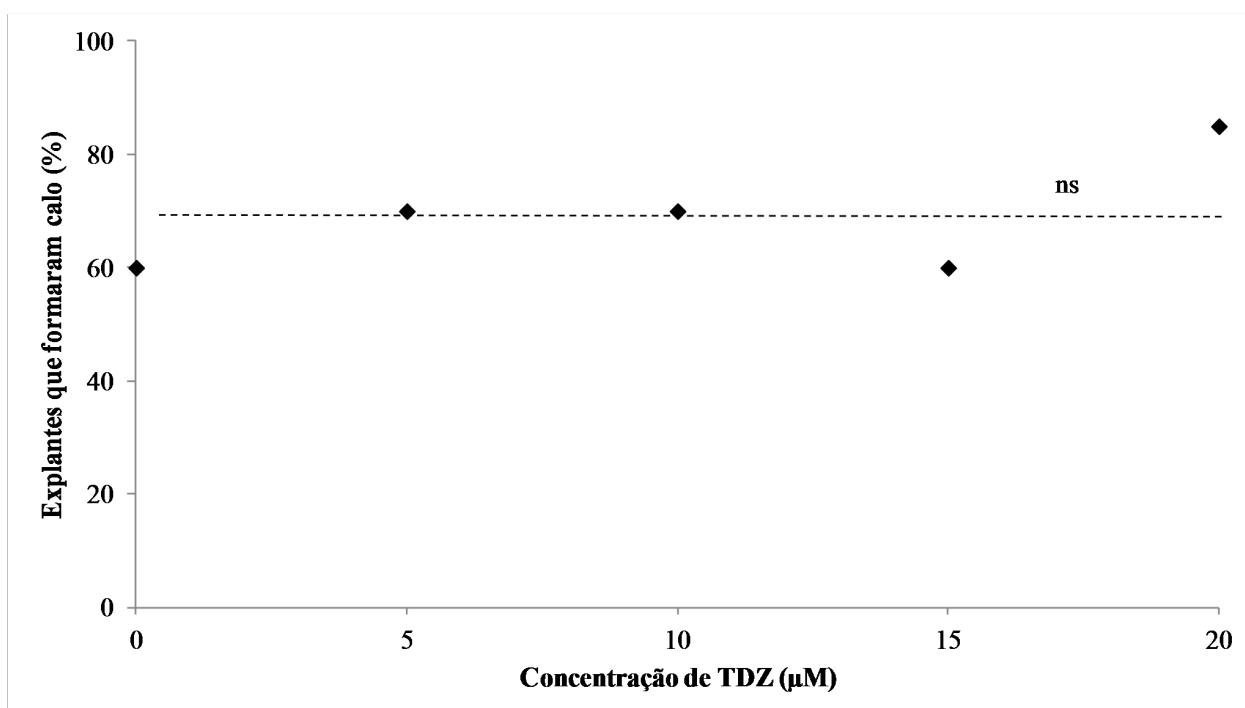


Figura 1. Porcentagem de calos formados por explante durante a organogênese *in vitro* de guavira (*Campomanesia adamantium*) utilizando diferentes concentrações de TDZ, aos 56 dias de cultivo.

Com relação à emissão de brotações, em nenhuma das concentrações testadas e durante o período de avaliação (56 dias) houve emissão de brotações, conforme pode ser observado na figura 2. De acordo com Graner et al. (2013) após 84 dias de cultivo *in vitro*, em *Bactris gasipaes*, o TDZ adicionado ao meio de cultivo aumenta o número de brotações se comparado ao explantes cultivados controle em meio livre de regulador.

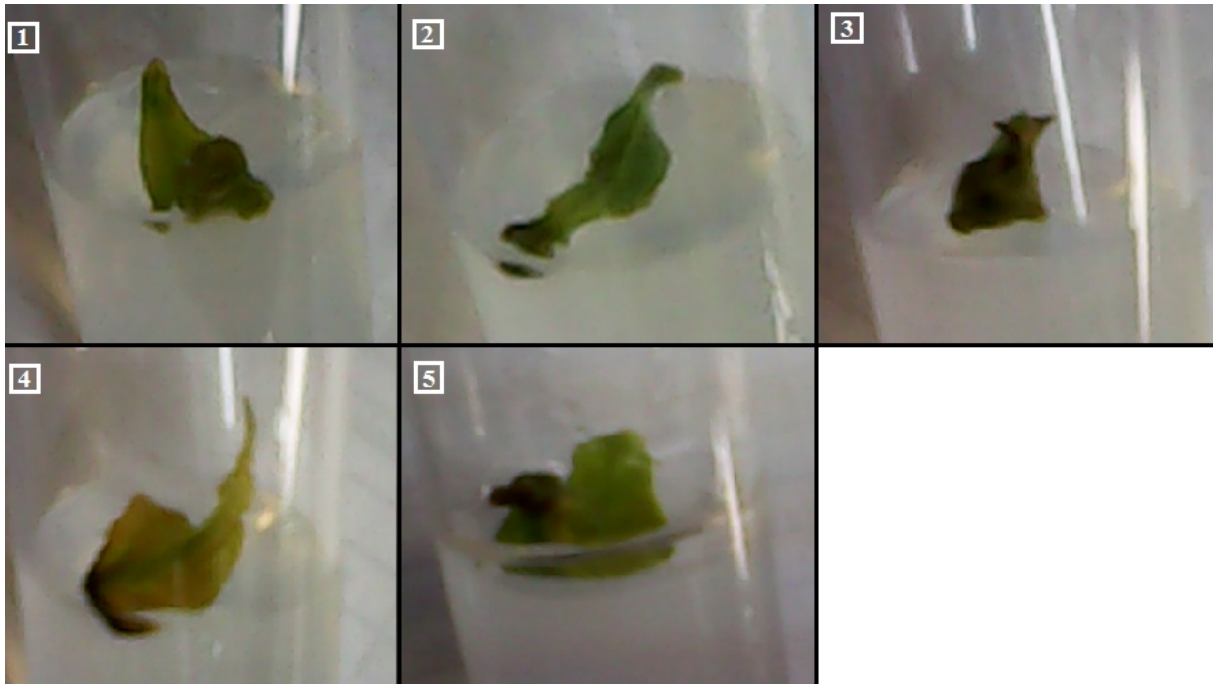


Figura 2. Aspecto visual da formação de calos durante o processo de organogênese *in vitro* de guavira (*Campomanesia adamantium*) a partir de explantes foliares, aos 56 dias de cultivo em meio MS suplementado com diferentes concentrações de TDZ. 1 – Controle (0); 2 – 5,0 μM ; 3 – 10 μM ; 4 – 15 μM ; 5 – 20 μM .

Outros trabalhos também propuseram que elevadas concentrações do hormônio vegetal TDZ acarretam excessiva formação de calos, bem como o tipo de explante utilizado. Como demonstrado por Carvalho et al. (2011) em videiras (*Vitis vinifera*), onde a formação de calos foi influenciada de maneira significativa pelo tipo de explante utilizado, uma vez que os internódios foram os mais responsivos com percentual em 47,4%, em comparação aos segmentos foliares em apenas 7,2%. E ainda maiores concentração de TDZ propiciaram substanciais taxas de formação calosa, sendo estas, as concentrações 5 μM e 10 μM , porém a concentração de 2,5 μM fora tida como mais vantajosa para o sucesso de regeneração *in vitro*.

Quanto ao percentual de explantes oxidados, semelhante à formação de calos, não houve diferenças significativas entre os diferentes tratamentos quando analisados os dados por regressão polinomial (Figura 3). Estes resultados sugerem que o processo de oxidação dos explantes não é influenciado pela presença do regulador de crescimento TDZ e sim derivado do próprio explante ou da manipulação do mesmo. O processo de oxidação é um fenômeno comum, principalmente em se tratando de espécies da família Myrtaceae e este fato se deve a produção e liberação de compostos fenólicos, presenciada pelo escurecimento das superfícies seccionadas dos explantes e pela modificação da coloração, sendo observado escurecimento do meio de cultura (MICHELUZZI, 2007).

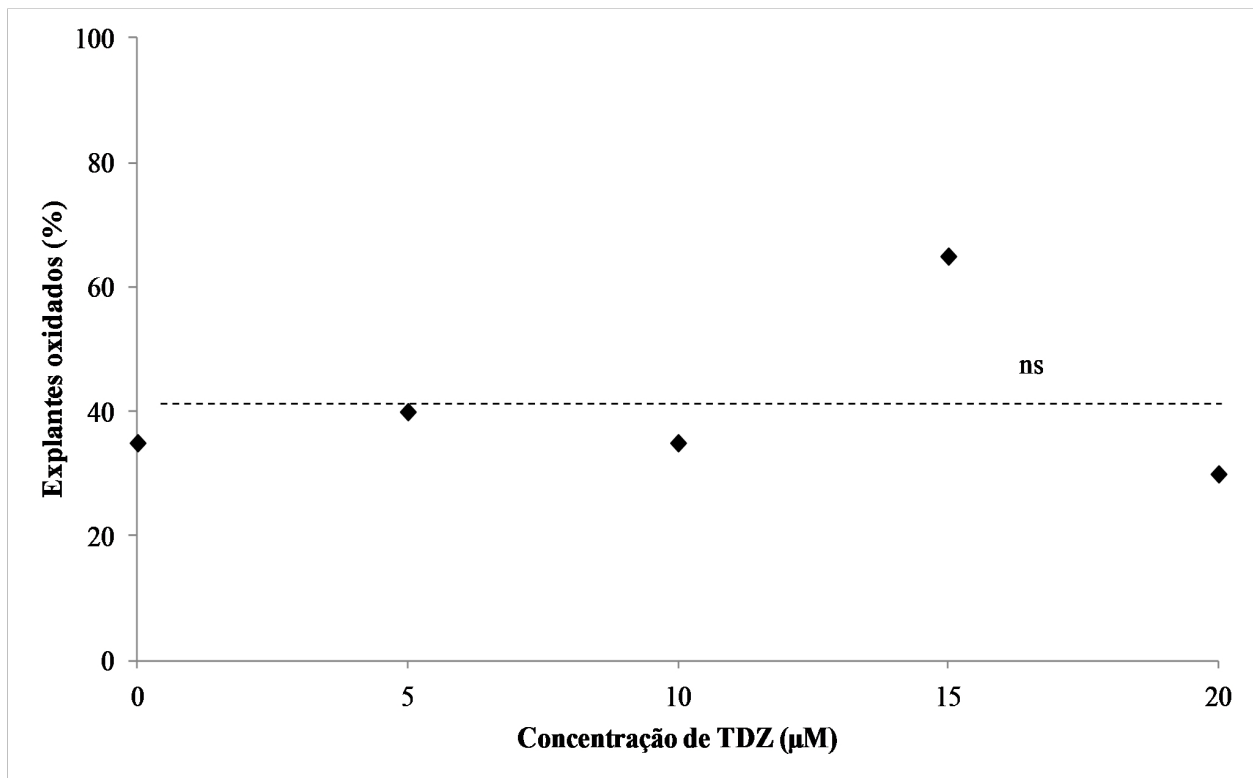


Figura 3. Porcentagem de explantes oxidados durante a organogênese *in vitro* de guavira (*Campomanesia adamantium*) utilizando diferentes concentrações de TDZ, aos 56 dias de cultivo.

Experimento 2: Organogênese *in vitro* de guavira (*Campomanesia adamantium*) utilizando diferentes tipos de explantes e reguladores de crescimento.

Neste experimento verificou-se que a formação de calos é dependente do tipo de explante utilizado. Explantes provenientes de entre-nós caulinares são mais responsivos e apresentam maior percentual de calos em meio de cultura suplementado com 5,0 µM de TDZ e em meio suplementado com TDZ + ANA (5,0+1,0 µM) quando comparados com explantes provenientes de raízes nos mesmos tratamentos (Tabela 1). Apesar da desdiferenciação dos explantes formando calos, não houve emissão de brotações (Figura 4), podendo este fato estar relacionado ao uso de concentrações hormonais inadequadas nesta espécie.

De acordo com Silva et al. (2011) além da espécie, o uso e a otimização da concentração do regulador de crescimento é muito importante, sendo que o TDZ tem se mostrado efetivo na indução da regeneração *in vitro*. Este regulador de crescimento tem sido muito utilizado para induzir a formação de brotações e calos em várias espécies de plantas, especialmente nas lenhosas, mostrando-se mais eficiente que outros tipos de citocininas, como o BAP (6-benzilaminopurina) e a cinetina.

Tabela 1. Porcentagem de calos formados por explante durante a organogênese *in vitro* de guavira (*Campomanesia adamantium*) utilizando diferentes tipos de explantes e reguladores de crescimento aos 56 dias de cultivo.

Tipo de explante	Explantes que formaram calo (%)		
	TDZ (5 µM)	ANA (1 µM)	TDZ+ANA (5+1 µM)
Entre-nó	100 a A*	52 a B	100 a A
Raiz	20 a B	44 a AB	64 b A

*Médias seguidas por letras iguais minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferiram entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

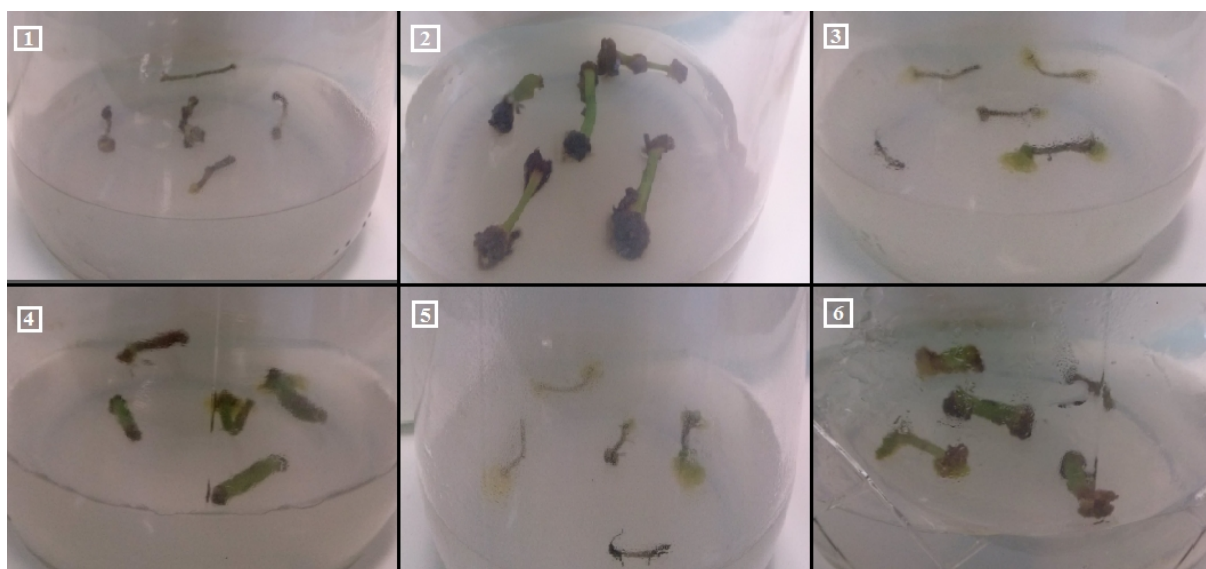


Figura 4. Aspecto visual da formação de calos durante o processo de organogênese *in vitro* de guavira (*Campomanesia adamantium*) a partir de explantes caulinares internodais e radiculares cultivados em meio MS suplementado com diferentes reguladores de crescimento. 1 – Raiz, 5,0 µM de TDZ; 2 – Entre-nó, 5,0 µM de TDZ; 3 – Raiz, 1,0 µM de ANA; 4 – Entre-nó, 1,0 µM de ANA; 5 – Raiz, 5,0 µM de TDZ + 1 µM de ANA; 6 – Entre nó, 5 µM de TDZ + 1 µM de ANA.

Resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho foram verificados por Gobara (2011). O mesmo autor observou que o uso de 0,1 µM de ANA e 0,5; 1,0 e 1,5 µM de TDZ em explantes radiculares induziram reduzida formação de calos e nenhuma diferenciação destes calos em gemas. Em videira cv. merlot, Carvalho et al. (2011) observaram que a formação de calos é dependente do tipo de explante utilizado e verificaram que explantes de origem internodal apresentam maior formação de calos se comparados à explantes provenientes de segmentos foliares, obtendo médias de 47,4% e 7,2 %, respectivamente. Os mesmos autores verificaram que dentre as concentrações de TDZ testadas, o uso de 2,5 µM foi mais eficaz para a formação de calos, tendo em vista que nesta concentração, 90% dos explantes formaram calos.

Nas concentrações testadas, os reguladores de crescimento utilizados não influenciaram na oxidação nos explantes (Tabela 2). Por outro lado, observou-se que a oxidação é dependente do tipo de explante utilizado. Explantes internodais, nos tratamentos testados, não apresentaram oxidação, enquanto que, explantes radiculares apresentaram oxidação em todos os tratamentos, mesmo que em valores relativamente baixos. Provavelmente este fato está associado às células da raiz serem mais sensíveis e mais susceptíveis à luz, resultando em maior atividade das enzimas oxidativas.

Tabela 2. Porcentagem de explantes oxidados durante a organogênese *in vitro* de guavira (*Campomanesia adamantium*) utilizando diferentes tipos de explantes e regulador de crescimento aos 56 dias de cultivo.

Tipo de explante	Explantes oxidados (%)		
	TDZ (5 µM)	ANA (1 µM)	TDZ+ANA (5+1 µM)
Entre-nó	0 a A*	0 b A	0 b A
Raiz	8 a A	16 a A	20 a A

*Médias seguidas por letras iguais minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferiram entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

De acordo com Ribeiro et al. (2013) a oxidação dos explantes geralmente ocorre em função da liberação de compostos fenólicos pelos tecidos vegetais. No cultivo *in vitro* o processo de oxidação pode ser desencadeado por injúrias causadas aos tecidos vegetais, como o corte dos explantes com bisturi (CID e TEIXEIRA, 2010) ou devido à utilização de agentes químicos na esterilização superficial. O tecido lesionado libera compostos fenólicos que em contato com as enzimas polifenoloxidasas oxidam os polifenóis formando as quinonas. As quinonas são substâncias altamente ativas e, posteriormente à sua produção, polimerizam e ou oxidam proteínas para formar compostos melânicos, os quais são responsáveis pelo escurecimento das partes excisadas dos explantes e do meio de cultura (GEORGE e SHERRINGTON, 1984). O acúmulo de polifenóis e de produtos da oxidação modificam a composição do meio e a absorção de metabólitos (ANDRADE, 2000), inibindo o crescimento e podendo causar a morte dos explantes (SATO et al., 2001).

CONCLUSÃO

Durante a organogênese *in vitro* de guavira a partir de explantes foliares conclui-se o uso de TDZ na concentração de 20 µM promove maior formação de calos e menores percentuais de oxidação.

Na organogênese *in vitro* de guavira a partir de explantes caulinares internodais e radiculares concluiu-se que explantes provenientes de entre-nós caulinares são mais responsivos e apresentam maior percentual de calos em meio de cultura suplementado com 5,0 µM de TDZ e em meio suplementado com TDZ + ANA quando comparados com explantes provenientes de raízes nos mesmos tratamentos.

AGRADECIMENTO

À FUNDECT-MS, ao CNPq e a CAPES, pelas bolsas concedidas e apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ACHARJEE, S.; HANDIQUE, P.J.; SARMAH, B.K. Effect of thidiazuron (TDZ) on *in vitro* regeneration of blackgram (*Vigna Mungo* L.) embryonic axes. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, Korea, v.15, n.4, p.311-318, 2012.
- ANDRADE, M.W.; LUZ, J.M.Q.; LACERDA, A.S. *et al.* Micropropagação de aroeira (*Myracrodron urundeuva* Fr. Allemao). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.1, p.174-180, 2000.
- ARRIGONI-BLANK, M.F.; SANTOS A.V.; BLANK A.F. Organogênese direta e aclimatização de plantas de patchouli. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 29, n. 2, p. 145-150, 2011.
- BRAGA, F.T.; PASQUAL, M.; CASTRO, E.V. de; DIGNART, S.L.; BIAGIOTTI, G.; PORTO, J.M.P. Qualidade de luz no cultivo *in vitro* de *Dendranthema grandiflorum* CV. Rage: Características morfofisiológicas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 502-508, 2009.
- CAMPOS, R.P.; HIANE, P.A.; RAMOS, M.I.L.; RAMOS FILHO, M.M.; MACEDO, M.L.R. Conservação pós-colheita de guavira (*Campomanesia sp.*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n.1, p. 41-49, 2012.
- CARMONA, R.; REZENDE, L.P.; PARENTE, T.V. Extração química de sementes de gabirola (*Campomanesia adamantium* Camb.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.16, n.1, p.31-33, 1994.
- CARVALHO, D.C. de; SILVA, A.L.L. da; TANNO, G.N.; PURCINO, M.; BIASI, L.A. Organogênese a partir de segmentos foliares e internodais de videira cv. merlot. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 1, p. 108-114, 2011.

CID, L.P.B.; TEIXEIRA, J.B. Oxidação fenólica, vitrificação e variação somaclonal. In: CID, L.P.B. (Ed.) **Cultivo in vitro de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 303p.

DRESCH, D.M.; SCALON, S. de P.Q.; MASETTO, T.E.; VIEIRA, M. do C. Germinação de sementes de *Campomanesia adamantium* (Camb.) O. Berg em diferentes temperaturas e umidades do substrato. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 40, n. 94, p. 223-229, 2012.

GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture**. Hants: Exegetics Limited, 1984. 709p.

GOBARA, B.N.K. **Calogênese a partir de segmentos de epicótilos e raízes de mogno (*Swietenia macrophylla* King)**. Monografia (TCC) - Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR, 40 f, 2011.

GRANER, E.M.; OBERSCHELP, G.P.J.; BRONDANI, G.E.; BATAGIN-PIOTTO, K.D.; ALMEIDA, C.V. de; ALMEIDA, M. de. TDZ pulsing evaluation on the *in vitro* morphogenesis of peach palm. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 19, 2^a ed., p. 283-288, 2013.

GUO, B.; STILES, A.R.; LIU, C. Thidiazuron enhances shoot organogenesis from leaf explants of *Saussurea involucreata* Kar. Et Kir. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 48, p. 609-612, 2012.

HUSSEIN, E.A.; AQLAN, E.M. Regeneration of *Solanum villosum* Mill., via direct organogenesis *in vitro*: A novel study. **International Journal of Botany**, v. 7, ed. 2, p. 177-182, 2011.

LIMA, C.O. de C.; MARCHI, M.N.G.; LIMA-BRITO, A.; CARNEIRO, C.E.; BELLINTANI, M.C.; SANTANA, J.R.F. de. Organogênese direta de *Orthophytum mucugense*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 2, p. 249-254, 2012.

MACHADO, A.A.; SILVA, J.G.C.; SILVEIRA JUNIOR, P.; CONCEIÇÃO, A.R. **Winstat-sistema de análise estatística para Windows**, 1999.

MELCHIOR, S.J.; CUSTÓDIO, C.C.; MARQUES, T.A.; MACHADO NETO, N.B. Colheita e armazenamento de sementes de gabirola (*Campomanesia adamantium* Camb. – Myrtaceae) e implicações na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.28, n.3, p.141-150, 2006.

MICHELUZZI, F.C. **Estudo da organogênese in vitro de explantes foliares de macieira (*Malus domestica* Borkh)** Cv. Galaxy. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 78 f, 2007.

MORAES, C.F.; SUZIN, M.; NIENOW, A.A.; GRANDO, M.F.; MANTO-VANI, N.; CALVETE, E.O.; DONIDA, B.T. Germinação *in vitro* de sementes de alcachofra. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 28, n. 1, p. 64-89, 2010.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.

REZENDE, R.K.S.; PAIVA, L.V.; PAIVA, R.; CHALFUN JÚNIOR, A.; TORGA, P.P.; CASTRO, E.M. de. Organogênese em capítulos florais e avaliação de características anatômicas da folha de *Gerbera jamesonii* Adlam. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 821-827, 2008.

REY, M. dos S.; PINHO, D.S. de; VIEIRA, A.P.; BRAGA, E.J.B.; PIEROBOM, C.R.; PETERS, J.A. Organogênese direta de mesocótilos de arroz (*Oryza sativa* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 521-526, 2010.

ROY, A.R.; SAJEEV, S.; PATTANAYAK, A.; DEKA, B.C. TDZ induced micropropagation in *Cymbidium giganteum* Wall. Ex Lindl. and assessment of genetic variation in the regenerated plants. **Plant Growth Regulation**, v. 68, 3^a ed., p. 435-445, 2012.

SATO, A.Y.; DIAS, H.C.T.; ANDRADE, L.A de.; SOUZA, V.C de. Micropropagação de *Celtis sp*: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, v. 7, n. 2, p. 117-123, 2001.

SOARES, F.P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A.A. de; NOGUEIRA, R.C.; EMRICH, E.B.; MARTINOTTO, C. Organogênese direta em explantes caulinares de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1048-1053, 2007.

SCALON, S. de P.; OSHIRO, A.M.; DRESCH, D.M. Conservação pós-colheita de guavira (*Campomanesia adamantium* Camb.) sob diferentes revestimentos e temperaturas de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n.4, p. 1022-1029, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004, 722p.