

MICROPROPAGAÇÃO DE PEQUIZEIRO (*Caryocar brasiliense* Camb.)¹

BRENO RÉGIS SANTOS², RENATO PAIVA³, RAÍRYS CRAVO NOGUEIRA⁴, LENALDO MUNIZ DE OLIVEIRA⁵,
DIOGO PEDROSA CORRÊA DA SILVA⁶, CRISTIANO MARTINOTTO⁷, FERNANDA PEREIRA SOARES⁸,
PATRÍCIA DUARTE DE OLIVEIRA PAIVA⁹

RESUMO - Por apresentar dormência em suas sementes, a propagação do pequizeiro necessita de estudos para a obtenção de mudas por via assexuada. Este trabalho teve como objetivo contribuir para o estabelecimento de um protocolo de micropropagação de pequizeiro. Para indução de brotações, os explantes foram inoculados em meio WPM com diferentes concentrações de BAP e ANA. Para a indução de raízes, brotações obtidas *in vitro* foram transferidas para meio WPM suplementado com diferentes concentrações de AIB e na presença ou ausência de carvão ativado. As plantas obtidas foram transferidas para sacos de polietileno contendo o substrato, cobertas com uma garrafa tipo *pet* para auxiliar no processo de aclimatização. O melhor tratamento para a indução de brotações foi aquele que utilizou 0,05mg L⁻¹ de ANA combinado com 0,75mg L⁻¹ de BAP, obtendo-se uma média de 6 brotações por explante, induzindo maior número de gemas por explante (17,4), o que proporcionou a maior taxa de multiplicação (8,7). A utilização de 3mg L⁻¹ de AIB proporcionou a indução de raízes em 100% dos explantes, gerando um número médio de 12,87 raízes por brotação. As raízes desenvolvidas no meio de cultivo contendo carvão ativado foram maiores (33,16 mm), com maior número de raízes secundárias (19,53) e com maior taxa de sobrevivência na fase de aclimatização.

Termos para indexação: 6-benzilaminopurina, organogênese, ácido indolbutírico, aclimatização, fitorreguladores, meios de cultura.

MICROPROPAGATION OF "PEQUIZEIRO" (*Caryocar brasiliense* Camb.)

ABSTRACT - Due the presence of seed dormancy, the propagation of *Caryocar brasiliense* requires studies in order to obtain young asexually plants. This work had as objective contribute to the establishment of a "pequizeiro" micropropagation protocol. For shoot induction, explants were inoculated in WPM medium with different concentrations and interactions of BAP and NAA. For rooting induction, shoots obtained *in vitro* were transferred to WPM medium supplemented with different concentrations of IBA in the presence or absence of activated charcoal. The best treatment for shoot induction was the use of 0,05mg L⁻¹ ANA + 0,75mg L⁻¹ BAP, which produced an average of 6 shoots/explant (17,4) providing the highest rate of multiplication (8,7). The use of 3mg L⁻¹ IBA promoted root induction in all explants generating average of 12,87 roots per explant. Roots developed in the presence of activated charcoal presenting higher length (33,16 mm) and higher number of secondary roots (19,53).

Index terms: 6-benzylaminopurine, organogenesis, indolbutiric acid, acclimatization, phyto regulator, culture media.

INTRODUÇÃO

O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma espécie do cerrado que vem se destacando pelo alto potencial econômico; porém, encontra-se em risco de extinção devido à destruição em ritmo acelerado das vegetações nativas, pelo avanço das fronteiras agrícolas e pelo extrativismo de seus frutos. Segundo Melo (1987), como a espécie tem sido utilizada em programas de revegetação de áreas degradadas e como fonte geradora de renda, torna-se necessária a produção contínua e em larga escala de mudas. Entretanto, por apresentar dormência em suas sementes, estudos devem ser desenvolvidos primeiramente acerca da obtenção de mudas por via assexuada.

Assim, o cultivo *in vitro* é uma ferramenta útil para a propagação do pequizeiro, podendo favorecer a formação de mudas em quantidade suficiente para atender à demanda do mercado, contribuindo para a rápida recomposição de populações degradadas pelo extrativismo.

Das citocininas comercialmente disponíveis, o 6-benzilaminopurina (BAP) é o regulador de crescimento que, em geral, apresenta melhores resultados *in vitro* para promover a multiplicação de diversas espécies, sendo utilizado em aproximadamente 60% dos meios. As auxinas mais utilizadas são o ácido indolbutírico (AIB), o ácido naftalenoacético (ANA) e o ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D). As duas primeiras são, geralmente, utilizadas na fase de

enraizamento, e a última, na indução de calos e embriogênese somática (Grattapaglia & Machado, 1998).

Além dos reguladores de crescimento, alguns compostos podem ser adicionados ao meio de cultivo para auxiliar a indução da rizogênese. O carvão ativado tem sido relacionado com a indução de raízes, provavelmente por criar uma condição de escuro, na qual as raízes normalmente se desenvolvem (Gomes, 1999).

Após o enraizamento, as plantas devem ser aclimatizadas, onde desenvolverão características que permitam sua sobrevivência no novo ambiente, caracterizado pela alta luminosidade e baixa umidade. A aclimatização envolve o transplante da planta da condição *in vitro* para a casa de vegetação, sendo considerada uma fase crítica do processo de micropropagação, sendo limitante na micropropagação de muitas espécies (Grattapaglia & Machado, 1998).

Este trabalho teve como objetivo verificar o efeito do 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA) sobre a indução de brotações do pequizeiro e do ácido indolbutírico (AIB) e carvão ativado sobre a rizogênese *in vitro* das plantas obtidas, bem como o efeito residual desses tratamentos sobre a taxa de sobrevivência das plantas durante o período de aclimatização.

MATERIAL E MÉTODOS

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio (23 x 137mm) contendo 15 mL de meio, sendo o pH do meio de cultivo

¹ (Trabalho 113-2005). Recebido: 27-07-2005. Aceito para publicação: 30-05-2006.

² Doutor em Fisiologia Vegetal, Eng^o Agr^o, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CP: 3037, CEP: 37200-000, Lavras, MG. brenors@yahoo.com.br.

³ Professor, Eng^o Agr^o, UFLA, renpaiva@ufla.br.

⁴ Doutoranda em Fisiologia Vegetal, Bióloga, UFLA, raírys@yahoo.com.br.

⁵ Professor – UESB, Doutorando em Fisiologia Vegetal, UFLA.

⁶ Graduando em Agronomia, Estudante de Iniciação Científica FAPEMIG, UFLA.

⁷ Doutorando em Fisiologia Vegetal, Eng^o Agr^o, UFLA.

⁸ Doutoranda em Fisiologia Vegetal, Eng^a Agr^a, UFLA.

⁹ Professora, Eng^a Agr^a, UFLA.

ajustado para 5,8 e, posteriormente, autoclavado a 121° C e 1,0 atm, por 20 minutos. Após a inoculação, os tubos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25±1°C, com irradiância de fótons de 36µmol m⁻² s⁻¹.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 15 repetições, sendo cada repetição formada por um tubo de ensaio, com um explante. Foi realizado o teste de probabilidade Scott-Knott, considerando significância de 5%. Apenas no experimento com carvão ativado foram utilizadas 20 repetições.

Influência do BAP na indução de brotações em segmentos nodais de pequiheiro

Segmentos nodais com aproximadamente 1,0 cm, provenientes de plantas de pequiheiro obtidas por meio de germinação de sementes *in vitro*, foram utilizados como explantes. Para a indução de brotações, os explantes foram inoculados em meio WPM (Lloyd & McCown, 1980), acrescido de 800mg L⁻¹ de PVP (polivinilpirrolidona), 30g L⁻¹ de sacarose, 7g L⁻¹ de ágar e diferentes concentrações de BAP (0,0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5; 1,75 e 2,0 mg L⁻¹).

Aos 40 dias de cultivo, foram avaliados o número de brotações, o número de folhas, o número de gemas por explante, a taxa de multiplicação e a altura da maior brotação. A taxa de multiplicação foi determinada dividindo-se o número de gemas por explante, obtido aos 40 dias, pelo número inicial de gemas do explante, segundo metodologia descrita por Erig & Schuch (2002).

Efeitos da interação BAP e ANA na indução de brotações em explantes de pequiheiro

Para verificar o efeito da interação entre BAP e ANA, o meio de cultivo WPM foi acrescido de 7g L⁻¹ de ágar, 800mg L⁻¹ de PVP, 30g L⁻¹ de sacarose e diferentes concentrações de BAP (0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 mg L⁻¹) e ANA (0; 0,05; 0,1mg L⁻¹), e as suas possíveis combinações, totalizando 15 tratamentos.

Aos 40 dias de cultivo, foram avaliadas as mesmas variáveis descritas anteriormente.

Efeito do AIB no enraizamento *in vitro* de brotações em explantes de pequiheiro

Para o estudo da indução de raízes, brotações com aproximadamente 35mm de comprimento, provenientes do cultivo *in vitro* de segmentos caulinares, foram utilizadas como explantes. As brotações foram transferidas em câmara de fluxo laminar para tubos de ensaio (23 x 137mm) contendo 15ml de meio WPM, suplementado com 30g L⁻¹ de sacarose, 7g L⁻¹ de ágar e diferentes concentrações de AIB (0; 1,0; 1,5; 3,0; 4,5 e 5mg L⁻¹). Após 60 dias de cultivo, foram avaliados quanto ao número de raízes, comprimento da maior raiz (mm) e números de raízes secundárias.

Efeito do carvão ativado na indução de raízes *in vitro* em explantes de pequiheiro

Para se verificar o efeito do carvão ativado na indução de raízes, brotações com aproximadamente 35 mm de comprimento provenientes do cultivo *in vitro* de segmentos caulinares foram utilizadas como explantes. As brotações foram transferidas em câmara de fluxo laminar para tubos de ensaio (23 x 137mm) contendo 15ml de meio WPM, suplementado com 30g L⁻¹ de sacarose, 7g L⁻¹ de ágar e 3,0mg L⁻¹ de AIB. Avaliou-se o efeito da presença ou não de carvão ativado (4g L⁻¹). Aos 60 dias de cultivo, avaliaram-se o número de raízes, o comprimento da maior raiz (mm) e os números de raízes secundárias.

Efeito residual do carvão ativado sobre a aclimatização das plantas em explantes de pequiheiro

Plantas enraizadas *in vitro*, na presença (4g L⁻¹) e ausência de carvão ativado, e em meio WPM suplementado com 30g L⁻¹ de sacarose e 3,0mg L⁻¹ de AIB, foram utilizadas como material vegetal.

As plantas foram transferidas para sacos de polietileno (577 cm³) contendo o substrato composto por terra de subsolo, areia lavada e esterco (2:1:1), o qual foi previamente autoclavado a uma temperatura de 120 °C e 1,0 atm, por 30 minutos. Em seguida, as plantas foram cobertas com uma garrafa tipo *pet* com tampa e colocadas sobre caixa tipo gerbox contendo água destilada para manter a umidade semelhante à encontrada nas condições *in vitro*, e mantidas em sala de aclimatização com 12 h de luz e irradiância de fótons de 60µmol m⁻² s⁻¹.

Durante o período de aclimatização, a tampa da garrafa *pet* foi aberta gradativamente, até a total remoção aos 20 dias após o transplantio. A cobertura plástica foi totalmente retirada com 30 dias, quando se considerou a planta totalmente aclimatizada. Ao final deste período, observou-se a porcentagem de plantas vivas em função dos tratamentos aos quais as plantas foram submetidas na fase de enraizamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Indução de brotações

Apesar de os resultados não terem sido significativos para a utilização do BAP isoladamente, observa-se que, para o número de brotações, os tratamentos que se destacaram, foram aqueles com a utilização de 0,5; 0,75 e, sobretudo, 1,0mg L⁻¹ de BAP, possibilitando a obtenção de 0,67; 0,53 e 0,93 brotações por explante, respectivamente. Concentrações superiores a 1,0mg L⁻¹ ocasionaram queda brusca na indução de brotações.

Na indução de brotações em segmentos nodais de salix (*Salix humboldtiana* Willd.), em função da utilização do BAP, Santos (2001) também obteve maior número de brotações ao utilizar 1mg L⁻¹ de BAP. Para o pessegueiro (*Prunus* spp.), a indução de brotações *in vitro* foi mais eficiente ao se inocularem segmentos nodais em meio de cultivo suplementado com 0,5mg L⁻¹ de BAP (Silva et al., 2003). As pequenas variações nas respostas obtidas decorrem, certamente, do balanço interno de cada planta, bem como da competência de cada tipo de explante para desenvolver a resposta morfogenética.

TABELA 1 - Número de brotações de pequiheiro em função da interação BAP x ANA. Lavras, UFLA, 2004.

BAP (mg L ⁻¹)	ANA (mg L ⁻¹)		
	0,00	0,05	0,10
0,00	0,0 bA	0,0 dA	0,0 bA
0,25	0,3 bB	2,1 cA	1,5 aA
0,50	0,4 bA	0,7 dA	0,3 bA
0,75	2,8 aC	6,0 aA	1,3 aC
1,00	1,1 bB	3,1 bA	0,0 bC
C.V. (%)	75,56		

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

TABELA 2 - Comprimento de brotações de pequiheiro em função da interação BAP x ANA. Lavras, UFLA, 2004.

BAP (mg L ⁻¹)	ANA (mg L ⁻¹)		
	0,00	0,05	0,10
0,00	0,0 bA	0,0 bA	0,0 bA
0,25	3,0 bB	9,9 aA	7,9 aA
0,50	3,7 bA	6,1 aA	3,2 bA
0,75	9,5 aA	8,7 aA	7,1 aA
1,00	5,1 bB	11,5 aA	0,0 bC
C.V. (%)	86,44		

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Para a interação de ANA e BAP, houve efeito extremamente significativo para número de brotos, comprimento, número de gemas e taxa de multiplicação (Tabelas 1; 2; 3 e 4).

O melhor tratamento para a indução de brotações foi aquele

TABELA 3 - Número de gemas em brotações de pequiheiro em função da interação BAP x ANA. Lavras, UFLA, 2004.

BAP (mg L ⁻¹)	ANA (mg L ⁻¹)		
	0,00	0,05	0,10
0,00	0,0 bA	0,0 dA	0,0 bA
0,25	1,4 bB	6,0 bA	4,0 aA
0,50	1,4 bA	2,8 cA	1,2 bA
0,75	8,4 aB	17,4 aA	5,0 aC
1,00	3,2 bB	7,4 bA	0,0 bC
C.V. (%)	76,03		

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

TABELA 4 - Taxa de multiplicação de explantes de pequiheiro em função da interação BAP x ANA. Lavras, UFLA, 2004.

BAP (mg L ⁻¹)	ANA (mg L ⁻¹)		
	0,00	0,05	0,10
0,00	0,0 bA	0,0 dA	0,0 bA
0,25	0,7 bB	3,0 bA	2,0 aA
0,50	0,7 bA	1,4 cA	0,6 bA
0,75	4,2 aB	8,7 aA	2,5 aC
1,00	1,6 bB	3,7 bA	0,0 bC
C.V. (%)	76,03		

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

que utilizou 0,05mg L⁻¹ de ANA combinado com 0,75mg L⁻¹ de BAP, obtendo-se uma média de 6 brotações por explante, induzindo maior comprimento (8,7 cm) e número de gemas por explante (17,4), o que proporcionou a maior taxa de multiplicação (8,7). A maior taxa de multiplicação possibilitará maior velocidade no processo de micropropagação, reduzindo a necessidade de constantes estabelecimentos de novas culturas.

Estes resultados são corroborados por Ramirez-Malagon et al. (2001), que obtiveram um aumento no número de brotações de *Spathiphyllum floribundum* L. com a utilização combinada de BAP e ANA, com predomínio do primeiro.

Resultados favoráveis para a utilização de BAP e ANA, em baixas concentrações, também foram observados por Bem-Jacov & Dax (1981), quando induziram brotações *in vitro* de *Grevillea rosmarinifolia*. Santana (2003) relata que o sinergismo entre auxinas e citocininas é crítico para o controle da morfogênese *in vitro* e que concentrações mais elevadas de citocininas em relação às auxinas induzem, predominantemente, a formação de gemas, o que foi confirmado por este trabalho.

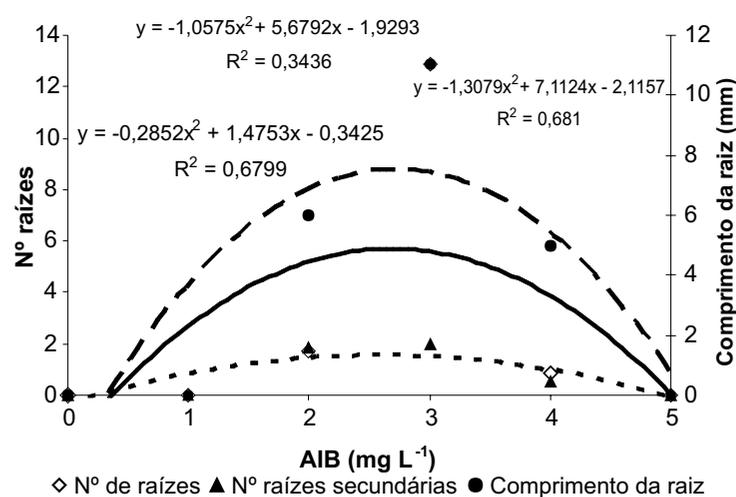
Enraizamento *in vitro* das brotações

Segundo análise de regressão, verificou-se efeito significativo para as três variáveis analisadas.

A utilização de 3mg L⁻¹ de AIB gerou um número médio de 12,87 raízes por brotação. Para o comprimento da maior raiz e o número de raízes secundárias, também foi verificado um aumento de acordo com o aumento da concentração de AIB no meio, até a concentração de 3mg L⁻¹, apresentando nesta concentração valores de 11,07 mm e de 2,0 de raízes, respectivamente (Figura 1).

Os resultados demonstraram que não houve indução de raízes em brotações de pequiheiro na ausência de AIB, e que este regulador é essencial neste processo de indução de raízes em brotações de pequiheiro. Resultado semelhante foi relatado por Pio et al. (2002) ao obter enraizamento de brotações de *Tangerina sunki* x *Trifoliata english* utilizando 6mg L⁻¹ de AIB.

Concentrações superiores provocaram a queda na indução de raízes, chegando a total inibição quando foram utilizadas 5mg L⁻¹ desse regulador. A auxina é importante nas fases iniciais da rizogênese (indução e iniciação), entretanto pode ser inibitória na última fase



◇ Nº de raízes ▲ Nº raízes secundárias ● Comprimento da raiz
FIGURA 1 - Número de raízes, comprimento da maior raiz e número de raízes secundárias em função das concentrações de AIB utilizadas no enraizamento de brotações de pequiheiro. Lavras, UFLA, 2004.

(elongação) (Grattapaglia & Machado, 1998).

Comportamento semelhante ao encontrado para a porcentagem de indução de raízes nas brotações foi obtido para o número de raízes, comprimento da maior raiz e número de raízes secundárias.

Com relação ao experimento com carvão ativado, considerando o nível de significância fixado em 5%, os resultados diferiram entre si para as três variáveis analisadas. Houve 100% de formação de raízes nas brotações inoculadas em meio de cultura contendo carvão ativado e nos meios sem carvão ativado, entretanto todas as brotações desenvolvidas na ausência de carvão ativado apresentaram formação de calos em sua base, o que pode interromper a ligação vascular entre as raízes e a brotação, dificultando uma futura aclimatização. Santos (2001) também observou que brotações de *Salix humboldtiana* Willd.) desenvolvem calos na base da brotação quando estas são inoculadas em meio sem carvão ativado.

O maior número de raízes foi obtido na ausência de carvão ativado (18 raízes por brotação), em relação à presença de carvão ativado (7,95 raízes por explante). Entretanto, as raízes desenvolvidas no meio de cultivo contendo carvão ativado foram maiores (33,16 mm) e com maior número de raízes secundárias (19,53). Menor quantidade de raízes secundárias pode afetar o processo de aclimatização (Deberg & Maene, 1984), devido à falta de raízes adventícias e pêlos absorventes, resultando em menor potencial para absorção de nutrientes e, conseqüentemente, de crescimento de brotações.

Segundo Pasqual et al. (2000), dentre os reguladores, o ácido indolbutírico (AIB) tem sido o mais utilizado para induzir o enraizamento de brotos.

Gomes (1999) relata que o carvão ativado é um dos compostos mais utilizados para auxiliar a rizogênese *in vitro*, por possuir a capacidade de fixar auxinas e reter fenóis, sendo, de forma geral, benéfico por promover o alongamento das raízes.

Aclimatização de plantas

As plantas provenientes do cultivo *in vitro* em meio WPM acrescido com 4g L⁻¹ de carvão ativado apresentaram, no final da aclimatização, maiores proporções de plantas vivas em relação às plantas provenientes do meio de cultivo com ausência de carvão ativado, embora o aspecto das plantas sobreviventes, provenientes dos dois tratamentos, tenham sido semelhantes.

Estes resultados confirmam os obtidos por Santos (2001), quando obteve 90% de sobrevivência durante a fase de aclimatização, trabalhando com plantas de *Salix humboldtiana* enraizadas em meio WPM acrescidos de 4g L⁻¹ de carvão ativado, e Santana (2003), no enraizamento *in vitro* de *Annona glabra*, obtendo

100 % de sobrevivência das plantas enraizadas em meio com 2g L⁻¹ de carvão ativado.

CONCLUSÕES

1. A presença de BAP no meio de cultivo é essencial para a indução de brotações em segmentos nodais de pequi.
2. A combinação de BAP e ANA, favorável ao primeiro, possibilita maior taxa de indução e desenvolvimento das brotações de pequi.
3. O uso de AIB, na concentração de 3,0mg L⁻¹ e carvão ativado, favorece a indução e o desenvolvimento de raízes em brotações de pequi.
4. A utilização de carvão ativado no meio de cultura possibilita maior taxa de sobrevivência em plantas de pequi durante a fase de aclimatização.
5. Para a micropropagação de explantes de pequi, recomenda-se a adição de 0,75 mg L⁻¹ de BAP + 0,05 ANA mg L⁻¹ na fase de multiplicação e 3,0 mg L⁻¹ AIB + 4,0 g L⁻¹ de carvão ativado na fase de enraizamento ao meio WPM modificado.

REFERÊNCIAS

- BEM-JAACOV, J.; DAX, E. *In Vitro* propagation of *Grevillea rosmarinifolia*. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n. 3, p. 309-310, 1981.
- DEBERG, P. C.; MAENE, L. J. Pathological and Physiological problems related to *in vivo* culture of plant, Parasitica, **Gembloux**, Paris, v. 40, n. 1, p. 69-75, 1984.
- 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**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 293-295, ago. 2002.
- GOMES, G. A. C. **Propagação *in vitro* de Moreira (*Maclura tinctoria*)**. 1999. 92f Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 1999.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CBAB, 1998. p. 331-353.
- LLOYD, G.; Mc COWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendro* spp. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 3, p. 416, June 1980. Abstracts 321.
- MELO, J. E. T. **Fatores relacionados com a dormência de sementes do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 1987. 92f. Dissertação (Mestrado em ciências florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1987.
- PASQUAL, M.; SILVA, A. B.; MACIEL, A. L. R.; PEREIRA, A. B.; ALVES, J. M. C. Enraizamento *in vitro* de um porta-enxerto de macieira em diversos substratos. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 781-784, out./dez. 2000.
- PIO, R.; RAMOS, J. D.; PIO, L. A. S.; MENDONÇA, V.; SILVA, A. B.; PASQUAL, M. Enraizamento *in vitro* de brotações do porta-enxerto de citros *Tangerina sunki* x *Trifoliata english* 63-256 com o uso de sacarose e ácido indolbutírico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 66-70, jan./fev. 2002.
- RAMIREZ-MALAGON, R.; BORODANENKO, A.; BARRERA-GUERRA, J. L.; OCHOA-ALEJO, N. Shoot number and shoot size as affected by growth regulators *in vitro* cultures of *Spathiphyllum floribundum* L. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 89, n. 3, p. 227-236, July 2001.
- SANTANA, J. R. F. **Controle da morfogênese *in vitro* em algumas espécies de annonaceae**. 2003. 237 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG
- SANTOS, B. R. **Propagação *in vitro* e abordagem fitoquímica em *Salix* (*Salix humboldtiana* Willd.)**. 2001. 89f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2001.
- SILVA, A. L.; ROGALSKI, M.; MORAES, L. K. A.; FESTIBINO, C.; CRESTANI, L.; GUERRA, M. P. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, 2, p. 297-300, ago. 2003.