

# CIRCULAR TÉCNICA

n. 358 - novembro 2021

ISSN 0103-4413

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais  
Departamento de Informação Tecnológica  
Av. José Cândido da Silveira, 1647 - União - 31170-495  
Belo Horizonte - MG - www.epamig.br - Tel. (31) 3489-5000



AGRICULTURA,  
PECUÁRIA E  
ABASTECIMENTO



MINAS  
GERAIS

GOVERNO  
DIFERENTE.  
ESTADO  
EFICIENTE.

## Influência do ácido naftalenoacético (ANA) e do 6-benzilaminopurina (BAP) na indução de brotações em pequizeiro estabelecidos in vitro<sup>1</sup>

Luciana Cardoso Nogueira Londe<sup>2</sup>  
Warley Rafael Oliva Brandão<sup>3</sup>

### INTRODUÇÃO

O Cerrado é a segunda maior formação vegetal do Brasil, depois da Amazônia, e também é a savana tropical mais rica do mundo em biodiversidade. Porém, essa riqueza encontra-se ameaçada por causa do ritmo acelerado em que este bioma vem sendo devastado. Dentre as fruteiras nativas do Cerrado, tem destaque o pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Cambess.), espécie arbórea pertencente à família Caryocaraceae, que possui várias denominações pelos povos da região, tais como piqui, pequiá, amêndoa-de-espinho, amêndoa-do-Brasil e pequi (ALMEIDA; SILVA, 1994; RIBEIRO, 2000; KERR; SILVA; TCHUCARRAMAE, 2007 ).

Os estados de Minas Gerais e Goiás apresentam a maior parte da produção nacional, sendo que em Minas apenas o Norte de Minas e o Vale do Jequitinhonha são as regiões produtoras (IBGE, 2019). Os sertanejos realizam o extrativismo dos frutos do pequizeiro como fonte de renda, por meio da venda in natura, entretanto, a maior parte da produção dessas regiões se restringe ao autoconsumo das famílias coletoras, evidenciando a grande importância do pequi na alimentação dessas pessoas.

Porém, à medida que ocorrem a destruição das vegetações nativas, principalmente pelo desmatamento, a expansão das cidades dentro do bioma Cerrado e o extrativismo intensivo dos frutos do pe-

qui, dentre outros problemas, ocorre também o aumento no risco da preservação e da variabilidade genética do pequizeiro. Aliado a isso, o extrativismo intensivo dessa espécie pode gerar perdas de material genético, já que quase todos os frutos de qualidade originados de genótipos superiores são coletados e consumidos ou comercializados, o que impede a reprodução natural a partir destes frutos.

Esta Circular Técnica traz uma abordagem sobre a influência de fitorreguladores na micropropagação de segmentos nodais provenientes de sementes estabelecidas in vitro.

### CONSERVAÇÃO GENÉTICA DO PEQUIZEIRO

A grande erosão de recursos genéticos do pequizeiro, em virtude da intensa destruição de habitats, tem aumentado o interesse pela conservação de seu germoplasma. Essa área busca o desenvolvimento de técnicas para a conservação em longo prazo da variabilidade genética de espécies vegetais, com a máxima integridade genética e biológica possível (PANIS; LOMBARDI, 2006).

Dentre as estratégias utilizadas para a conservação destacam-se a in situ e a ex situ. A conservação in situ é recomendada para manutenção das espécies selecionadas no seu habitat, como o pequizeiro, em parques, reservas biológicas ou reservas

<sup>1</sup>Circular técnica produzida pela EPAMIG Norte - CEGR, (38) 3834-1760, cegr@epamig.br.

<sup>2</sup>Bióloga, D.Sc., Pesq. EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, luciana@epamig.br.

<sup>3</sup>Eng. Agrônomo, M.Sc., IFAP - Campus Laranjal do Jari, Laranjal do Jari, AP, warley.brandao@ifap.edu.br.

ecológicas. Entretanto, este método é oneroso, visto depender de intenso manejo, além de estar sujeito a desastres naturais, como o extrativismo das espécies e queimadas das vegetações nativas. A conservação *ex situ* é aquela onde as espécies vegetais são mantidas fora do seu ambiente natural, por meio de coleções de plantas no campo, de sementes em bancos de sementes, ou de coleções de plântulas em bancos *in vitro*.

A possibilidade da utilização dos métodos de conservação *in vitro* é atrativa, tanto por motivos econômicos quanto práticos, sendo um componente adicional importante do tratamento de recursos genéticos e, principalmente, de espécies ameaçadas de extinção (LONDE, 2021).

Dessa forma, torna-se necessário aumentar a população de plantas dessa espécie para que não corra o risco de entrar em extinção, e que seus recursos genéticos sejam conservados. Visto a importância do pequi, é estratégico que se façam estudos para consolidação de bancos de germoplasmas *in vitro* dessa espécie. No entanto, sua propagação e cultivo são dificultados pela presença de dormência nas sementes, bem como pela lenta germinação destas que se estende por período de até um ano. Uma alternativa existente é a utilização de métodos de propagação assexuada, como o cultivo *in vitro*, o qual permite regenerar plantas inteiras derivadas de sementes ou alguma outra parte da planta. A conservação *in vitro* envolve manutenção de culturas em crescimento ativo por meio de subculturas periódicas de brotos e segmentos nodais conservados com sucesso por essa metodologia (BAJAJ, 1987).

As auxinas e citocininas são as classes de reguladores mais utilizadas no cultivo *in vitro*, sendo o ácido naftalenoacético (ANA) a auxina mais empregada, quando o propósito for o alongamento celular, o crescimento das partes aéreas, o enraizamento do explante inicial e a manutenção de um caule único com dominância apical. Já as citocininas, como o 6-benzilaminopurina (BAP), desempenham as funções de regular a divisão celular das partes aéreas nos vegetais e promover o crescimento de gemas laterais (TAIZ; ZEIGER, 2006). Outros compostos também podem ser adicionados ao meio de cultura para indução da rizogênese, como o carvão ativado. Este está associado com a indução de raízes, provavelmente por criar uma condição de escuro, na qual o sistema radicular normalmente se desenvolve e pelo seu efeito antioxidante (VAN WINKLE; JOHNSON; PULLMAN, 2003).

## CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal (LABBIOTEC) do Campo Experimental do Gorutuba (CEGR) da EPAMIG Norte, em Nova Porteirinha, MG.

Foram colhidos frutos de pequi oriundos de plantas-matrizes com características agronomicamente superiores situados no Norte de Minas Gerais nas proximidades do município de Montes Claros. Os frutos, após a colheita, foram transportados para o Laboratório depois de fazer uma seleção visual daqueles isentos de sintomas causados por doenças. Em seguida os frutos foram submetidos à limpeza, descascados e despolpados manualmente. Os caroços obtidos foram levados para desidratação sob luz solar e em local ventilado durante um período de 30 dias.

Após esse período, procedeu-se à escarificação física, pela remoção da casca seca, do mesocarpo e dos espinhos, com auxílio de um esmeril. Em seguida o material foi conduzido ao Laboratório, e a retirada do endocarpo foi realizada com auxílio de um alicate. Optou-se por continuar a escarificação física com uma ferramenta menor para se ter um maior controle manual no intuito de não danificar a semente, então obtida depois da retirada total do endocarpo.

As sementes ou também chamadas amêndoas ou putâmens foram levadas para embebição em solução aquosa de ácido giberélico ( $AG_3$ ) na concentração de 350 mg/L durante 24 horas, visando aumentar a porcentagem de germinação *in vitro* dessas sementes (BERNARDES *et al.*, 2008).

Em câmara de fluxo laminar foi realizado o processo de desinfestação das amêndoas, imergindo-as por um minuto em álcool 70%. Em seguida realizou-se uma nova imersão durante dez minutos em hipoclorito de sódio (NaClO) (1,5% a 2,0% - concentração comercial) e, posteriormente, a tríplice lavagem das amêndoas com água destilada e autoclavada.

Após todas essas etapas, as sementes de pequi foram estabelecidas em frascos autoclavados contendo meio Wood Plant Medium (WPM) (LLOYD; MCCOWN, 1980), acrescidos por 800 mg/L de ácido ascórbico, 400 mg/L de polivinilpirrolidona (PVP) e 7,0 g/L de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,8 e autoclavado a 120 °C por 20 minutos. Os frascos foram mantidos no escuro em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 1 °C. Após um período de 30 dias, algumas sementes germinaram *in vitro*, outras sofreram oxidação e outras contaminações fúngica

e/ou bacteriana. As plântulas normais, com ausência de sintomas e/ou sinais de patógenos, foram selecionadas para servir de material biológico para composição do experimento de indução *in vitro*.

### Estabelecimento *in vitro* de sementes do pequi e segmentos nodais

O material de propagação utilizado foi segmentos nodais com aproximadamente 1 cm de comprimento e idade de 6 meses, seccionados a partir do caule de plântulas de pequi provenientes de sementes estabelecidas *in vitro* e mantidas em sala de crescimento (Fig. 1).

Os segmentos nodais foram estabelecidos em tubos de ensaios com dimensões de 23 x 1.137 mm, os quais contiverem 40 mL de meio WPM, acrescidos

por 800 mg/L de ácido ascórbico, 400 mg/L de PVP, 30 g/L de sacarose e 7,0 g/L de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,8 e autoclavado a 120 °C por 20 minutos. Após o estabelecimento *in vitro*, os tubos permaneceram em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 1 °C e com irradiância de fótons de 36 μmol m<sup>2</sup>/s. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 7 x 2, com sete concentrações de BAP (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 mg/L) e duas concentrações de ANA (0; 0,05 mg/L) e quatro repetições, sendo que cada repetição foi composta por dois tubos de ensaio contendo um segmento nodal cada.

### Análise estatística

Foram realizadas duas avaliações, no período de 15 e 30 dias, após o estabelecimento dos explantes. Avaliou-se o número de brotações por explante por meio de contagem visual. Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando significativo, procedeu à análise de regressão para a interação das diferentes doses de ANA e BAP. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

### AValiação dos resultados

Aos 15 dias de subcultivo dos explantes *in vitro*, foram observados efeitos significativos entre a interação das doses de ANA (0 mg/L e 0,05 mg/L) com as demais doses de BAP (0; 0,5; 1,0; 1,5; 2; 2,5 e 3,0 mg/L) para a característica número de brotações, como mostrado na análise de variância (Tabela 1).

Figura 1 - Sementes de pequi estabelecidas *in vitro*



Nota: A - Semente em processo germinativo; B - Sementes oriundas do Norte de Minas Gerais.

Tabela 1 - Análise de variância para o número de brotações em explantes de pequi cultivados *in vitro* aos 15 dias de subcultivo

FV	GL	QM
BAP	6	11.177083**
ANA	1	37.785714**
BAP*ANA	6	7.733631**
Erro estatístico	42	1.580357
Total corrigido	55	-
CV (%)	40,23	-

Fonte: Elaboração dos autores.

Nota: Dados referentes aos tratamentos com ácido naftalenoacético (ANA) e 6-benzilaminopurina (BAP).

FV - Fonte de variação; GL - Grau de liberdade; QM - Quadrado médio; CV - Coeficiente de variação; \* Significativo a 5%; \*\* Significativo a 1%.

Nos tratamentos que não receberam a dose de ANA, ocorreu um aumento gradual no número de brotações de acordo com o aumento das concentrações de BAP. O valor máximo estimado para o número de brotações por explante na ausência de ANA foi 2,77, quando utilizada a concentração de 2,57 mg/L de BAP (Gráfico 1).

Alves (2010) afirma que a presença de BAP para indução de brotações em espécies lenhosas, como a *Cecropia glaziovii*, conhecida como Embaúba-vermelha é essencial, pois o autor obteve bons resultados quando este regulador foi utilizado sozinho, porém em concentrações mais altas do que neste estudo, acima de 5,0 mg/L. Entretanto, observa-se que com o aumento da concentração de 2,57 mg/L de BAP até a última concentração testada (3,0 mg/L), ocorreu um declínio no número de brotações. Isso pode ser explicado por Grattapaglia e Machado (1998), pois afirmam que concentrações crescentes de citocinina podem reduzir ou inibir o crescimento das brotações. Esse regulador de crescimento é eficaz na indução de brotações, mas, quando em excesso, é tóxico, ocasionando falta de alongamento dos brotos, engrossamentos do caule e vitrificação generalizada.

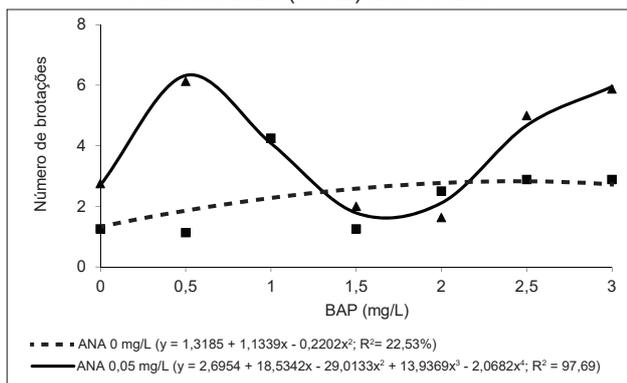
Para os tratamentos que receberam a dose de 0,05 mg/L ANA, ficou observado um comportamento que se ajustou melhor a uma curva de terceiro grau. À medida que houve o incremento das concentrações de BAP, o número de brotações por explante oscilou consideravelmente, alternando entre valores altos e baixos. Esse comportamento pode ter ocorrido porque os frutos não foram coletados todos de uma mesma planta-mãe, não mantendo assim um

único genótipo, o que pode ter contribuído para que alguns explantes pudessem ter respondido geneticamente melhor a este estudo. Também não houve uma padronização com relação à posição dos segmentos nodais excisados do caule das plântulas. Ou seja, a repicagem dos explantes selecionados a partir do caule foi realizada aleatoriamente ao longo do comprimento deste, o que pode ter influenciado nesse resultado, uma vez que existe diferença no nível de auxina endógena dos tecidos vegetais de acordo com a proximidade do tipo de meristema. Quanto mais próximos os tecidos de uma planta forem do meristema apical, possivelmente maior será o nível de auxina endógena existente nesses tecidos. Da mesma forma, quanto mais próximos os tecidos forem do meristema distal, possivelmente também menor será o nível de auxina endógena.

Assim, pode-se inferir que os níveis de auxina endógena presentes nos explantes que estavam mais próximos do meristema apical, provavelmente, influenciaram a resultados maiores para o número de brotações e que estes resultados expressaram-se de maneira alternada conforme as doses de BAP testadas, porque a distribuição destes segmentos nodais também foi feita de maneira aleatória nos tratamentos. Dessa forma, cada explante, de acordo com a sua posição de origem com relação aos dois tipos de meristemas, pode ter apresentando valores altos ou baixos para esta variável. Associado a isso, segundo Santos-Serejo *et al.* (2009), essas variações podem ter sido ocasionadas por causa do balanço interno de cada planta, bem como da competência de cada tipo de explante para desenvolver a resposta morfo-genética.

Apesar disso, ficou evidenciado que ao combinar BAP com ANA, ocorreu indução mais satisfatória de brotações. Na presença de 0,05 mg/L de ANA, observaram-se melhores resultados ao utilizar 0,5 mg/L de BAP, apresentando média de 6,32 brotações por explante. Do mesmo modo, ao combinar 0,05 mg/L de ANA com 3,0 mg/L de BAP, foram obtidos bons resultados também, 4,67 brotações por explante, resultado maior do que quando comparado com 3,0 mg/L de BAP sem a presença de ANA, pois apresentou uma média de 2,74 brotações por explante. Esses dados são corroborados por Santos-Serejo *et al.* (2009) que constataram que a combinação de BAP e ANA, favorável ao primeiro, possibilita maior taxa de indução e desenvolvimento das brotações de pequiheiro. Ou seja, ocorreu um maior número de

Gráfico 1 - Número de brotações para diferentes concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) e 6-benzilaminopurina (BAP) em explantes de pequiheiro cultivados *in vitro* em meio Wood Plant Medium (WPM) aos 15 dias



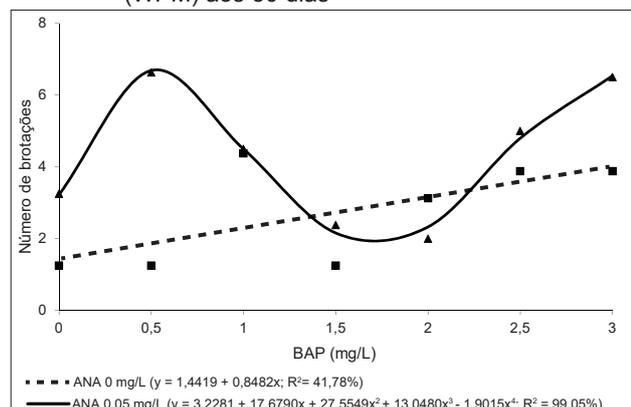
Fonte: Elaboração dos autores.

brotações quando se combinou a auxina com a citocinina. A combinação entre esses dois reguladores de crescimento é utilizada em algumas espécies vegetais para indução de brotações, utilizando-se, em geral, níveis relativamente baixos de auxina e maiores de citocinina no meio de crescimento (COSTA *et al.*, 2016). Observou-se que a ausência ou concentrações menores de ANA do que as de BAP são necessárias para a indução satisfatória de brotações *in vitro*, em explantes de pequiheiro. Resultados semelhantes para a utilização de BAP e ANA, em baixas concentrações, foram encontrados por Bem-Jacov e Dax (1981), quando induziu satisfatoriamente brotações *in vitro* de *Grevillea rosmarinifolia*.

Comportamento semelhante foi verificado aos 30 dias de subcultivo para a variável em estudo, entretanto, os explantes apresentaram uma média superior aos da primeira avaliação (Gráfico 2).

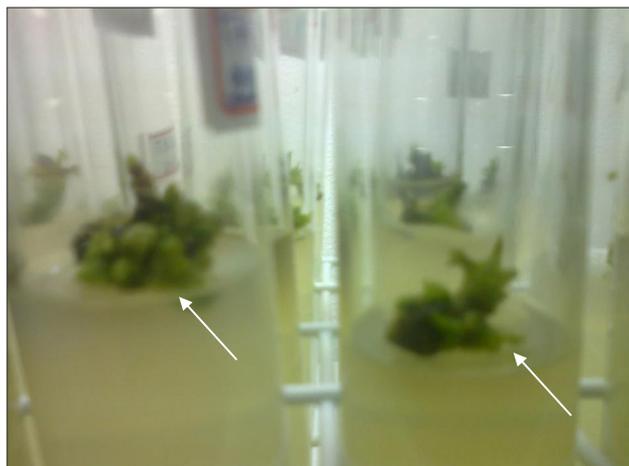
De acordo com o modelo linear, à medida que houve incremento das concentrações de BAP, o número de brotações por explante aumentou significativamente. O valor máximo estimado para o número de brotações por explante na ausência de ANA foi 3,98, quando utilizada a concentração de 3,0 mg/L de BAP. Porém, quando esta mesma concentração da citocinina estava associada ao ANA, um maior número de brotações foi observado segundo o modelo cúbico de regressão, apresentando uma média de 4,8 brotações por explante (Fig. 2). As citocininas têm ação em diversos processos de desenvolvimento da planta, inclusive divisão celular e diferenciação de culturas celulares, respostas morfogenéticas e desenvolvimento de órgãos (REDIG *et al.*, 1996).

Gráfico 2 - Número de brotações para diferentes concentrações de ácido naftalenoacético (ANA) e 6-benzilaminopurina (BAP) em explantes de pequiheiro cultivados *in vitro* em meio Wood Plant Medium (WPM) aos 30 dias



Fonte: Elaboração dos autores.

Figura 2 - Explante de pequiheiro



Warley Rafael Oliva Brandão

Nota: Cultivado em meio Wood Plant Medium (WPM) acrescido por 3,0 mg/L de 6-benzilaminopurina (BAP) combinado com 0,05 mg/L de ácido naftalenoacético (ANA) apresentando brotações (setas).

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 e domínio do primeiro.

Há alguns relatos na literatura que remetem o uso da interação entre auxinas e citocininas para indução de brotações em algumas espécies lenhosas como em *Ficus religiosa* L. e *Cercis canadensis* L. (DESPANDE; JOSEKUTTY; PRATHAPASENAN, 1998). Entretanto, as concentrações desses reguladores que proporcionaram melhores respostas quanto ao número de brotações por explante variaram moderadamente em cada tipo de trabalho. Essa variação pode ter sido ocasionada porque a combinação ótima entre os dois tipos de reguladores vai depender da espécie ou das cultivares dentro de uma mesma espécie. E ainda segundo Grattapaglia e Machado (1998), o tipo de citocinina e a sua concentração são os fatores que mais influenciam o sucesso da multiplicação *in vitro*.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de dormência nas sementes de pequiheiro, aliado à lenta germinação das que conseguem germinar e formar uma plântula normal, é o grande entrave inicial para este tipo de estudo. Além do fato de que algumas plântulas provenientes de sementes germinadas *in vitro* podem morrer por oxidação da própria semente no meio de cultivo ou por contaminações fúngica e bacteriana. Diante disso, o material genético de trabalho tende a ser reduzido,

dificultando a condução mais representativa acerca das hipóteses levantadas. No entanto, observou-se que explantes de pequi provenientes de cultivo *in vitro* têm potencial morfogênico para indução de brotações, utilizando os reguladores de crescimento avaliados, sendo que, para a indução de brotações de pequi, a concentração recomendada é a adição de 0,05 mg/L de ANA combinada com 3,0 mg/L de BAP.

Essas brotações, por sua vez, funcionam como alternativa para o então problema de dormência das sementes, pois estas são induzidas no intuito de aumentar a quantidade de futuro material propagativo de trabalho, já que têm a capacidade de se diferenciarem para formar um caule único com dominância apical, que foi o objeto de estudo para direcionamento do trabalho seguinte.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S.P.; SILVA, J.A. **Pequi e buriti: importância alimentar para a população dos cerrados**. Brasília, DF: Embrapa CPAC, 1994. 38p.
- ALVES, M.N. Tissue culture of *Cecropia glaziovii* Sneth (urticaceae): vegetative micropropagation and plant regeneration from callus. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, n.5, p.1245-1252, set./out. 2010.
- BAJAJ, Y.P.S. (ed.). **Biotechnology in agriculture and forestry 3: potato**. Berlin: Springer, 1987. 490p.
- BEM-JAACOV, J.; DAX, E. *In Vitro* propagation of *Grevillea rosmarinifolia*. **HortScience**, Alexandria, v.16, n.3, p.309-310, 1981.
- BERNARDES, T.G. *et al.* Propagação sexuada do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) estimulada por ácido. **Agropecuária Tropical**, Goiás, v.38, n.2, p.71-77, abr./jun. 2008. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/pat/article/view/4154>. Acesso em: 9 dez. 2021.
- COSTA, A.M. *et al.* Cultivo *in vitro* da bananeira Prata Anã clone Gorutuba, em meio líquido, agitado e estacionário. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v.63, n.3, p.277-281, maio-jun. 2016.
- DESHPANDE, S.R.; JOSEKUTTY, P.C.; PRATHAPASENAN, G. Plant regeneration from axillary buds of a mature tree of *Ficus religiosa*. **Plant Cell Reports**, v.17, p.571-573, 1998.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, nov./dez. 2011.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. *In*: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. Disponível em: <http://www.epamig.br>, em Publicações/Publicações disponíveis. Departamento de Informação Tecnológica
- Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 1998. v.1, p.183-260.
- IBGE. **Produção da extração vegetal e silvicultura - PEVS**. Rio de Janeiro: IBGE, 2019. v.34, p.7. Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/74/pevs\\_2019\\_v34\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/74/pevs_2019_v34_informativo.pdf). Acesso em: 13 dez. 2021.
- KERR, W.E.; SILVA, F.R. da; TCHUCARRAMAE, B. Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess.): informações preliminares sobre um pequi sem espinhos no caroço. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.29, n.1, p.169-171, abr. 2007.
- LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings of International Plant Propagators' Society**, v.30, p.421-427, 1980.
- LONDE, L.C.L. Criopreservação de rizomas *in vitro* de banana cv. Grand Naine. *In*: MOURA, P.H.A. (org.). **Responsabilidade social, produção e meio ambiente nas ciências agrárias 2**. Ponta Grossa: Atena Editora, 2021. cap.1, p.1-19. E-book. Disponível em: <https://www.atenaeditora.com.br/post-ebook/4237>. Acesso em: 20 dez. 2021.
- PANIS, B.; LAMBARDI, M. **Status of cryopreservation technologies in plants (crops and forest trees)**. Rome: FAO, 2006. p.61-78.
- RAMIREZ-MALAGON, R. *et al.* 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.
- REDIG, P. *et al.* Levels of endogenous cytokinins, indole-3-acetic acid and abscisic acid during the cell cycle of synchronized tobacco BY-2 cells. **FEBS Letters**, v.391, n.1-2, p.175-180, Aug. 1996.
- RIBEIRO, R. F. **Pequi: o rei do cerrado**. Belo Horizonte: Rede Cerrado, 2000. 62p.
- SANTOS-SEREJO, J.A. dos. Micropropagação da bananeira. *In*: JUGHANS, T.G.; SOUZA, A.S. (ed.). **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. p.237-255.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 764p.
- VAN WINKLE, S.C.; JOHNSON, S.; PULLMAN, G.S. The impact of gelrite and activated carbon on the elemental composition of plant tissue culture media. **Plant Cell Report**, New York, v.21, n.12, p.1175-1182, Aug. 2003.