



# Estabelecimento *in vitro* de sementes de *Psidium cattleianum* Sabine

## *In vitro* establishment of seeds of *Psidium cattleianum* Sabine

Ana Luiza **ARRUDA**<sup>1,2</sup>; Marcell **BUSS**<sup>1</sup>; Pricila Santos da **SILVA**<sup>1</sup>; Francine Regianini **NERBASS**<sup>1</sup>; Aike Anneliese **KRETZSCHMAR**<sup>1</sup> & Leo **RUFATO**<sup>1</sup>

### RESUMO

O araçazeiro-vermelho possui características que interessam a pesquisadores e produtores. O objetivo do presente estudo foi avaliar diferentes estados físicos do meio de cultura e métodos de superação da dormência no estabelecimento *in vitro* de sementes de araçazeiro-vermelho. O experimento aconteceu no Laboratório de Micropropagação Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina, em Lages. Foram estudados dois estados físicos do meio de cultura MS (sólido e líquido) e dois métodos de superação da dormência (ácido sulfúrico 96% e água quente a 80°C). Aos 40 dias, avaliaram-se o percentual germinativo, o comprimento médio de plântula (cm) e o índice de velocidade de germinação (IVG). Não houve interação entre os fatores estudados, portanto, foram analisados individualmente. A maior taxa de germinação (75%), o maior comprimento médio de plântulas (1,10 cm) e o maior IVG foram obtidos com o cultivo das sementes em meio líquido. A superação da dormência das sementes, efetuada com a água quente, proporcionou a maior germinação (66%), o maior comprimento médio de plântula (0,96 cm) e o maior IVG. O cultivo em meio líquido e a pré-imersão das sementes em água quente (80°C) mostraram-se eficientes e podem ser recomendados para o estabelecimento *in vitro* de araçazeiro-vermelho.

**Palavras-chave:** índice de velocidade de germinação; micropropagação; Myrtaceae.

Recebido em: 9 out. 2018

Aceito em: 26 nov. 2019

### ABSTRACT

The red guava *Psidium cattleianum* has characteristics that interest researchers and producers. The objective of the present study was to evaluate different physical states of culture medium and methods of overcoming dormancy in the establishment of *in vitro* seeds of the red guava. The experiment was carried out at the Plant Micropropagation Laboratory of Santa Catarina State University in Lages. Two physical states of MS culture medium (solid and liquid) and two dormancy overcoming methods (96% sulfuric acid and 80°C hot water) were studied. At 40 days, germination percentage, mean seedling length (cm) and germination speed index (IVG) were evaluated. There was no interaction between the factors studied, therefore, they were analyzed individually. The highest germination rate (75%), the highest average seedling length (1.10 cm) and the highest IVG were obtained by cultivating the seeds in liquid medium. Overcoming seed dormancy through warm water provided the largest germination (66%), the longest average seedling length (0.96 cm) and the highest IVG. Cultivation in liquid medium and pre-immersion of seeds in hot water (80°C) proved to be efficient and may be recommended for the establishment of red guava *in vitro*.

**Keywords:** germination speed index; micropropagation; Myrtaceae.

<sup>1</sup> Universidade do Estado de Santa Catarina (Udesc), Avenida Luis de Camões, n. 2.090, Conta Dinheiro – CEP 88520-000, Lages, SC, Brasil.

<sup>2</sup> Autor para correspondência: [analuiza1arruda@hotmail.com](mailto:analuiza1arruda@hotmail.com).

## INTRODUÇÃO

O araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine L.), pertencente à família Myrtaceae (SOBRAL *et al.*, 2014), é considerado uma espécie nativa do bioma mata atlântica (RBMA, 2018), podendo ser encontrado em todo o território brasileiro (GASPER *et al.*, 2013). A espécie possui grande importância em programas de recuperação de ecossistemas degradados (FRANZÓN *et al.*, 2009).

O fruto do araçazeiro pode ser consumido na forma *in natura* (apresentando boas características, como o elevado teor de vitamina C) bem como na forma industrializada, por meio da fabricação de sucos, doces e geleias (SANTOS *et al.*, 2014). Estudos sobre a composição química dos frutos do araçazeiro-vermelho indicam que são ricos em metabólitos secundários, tais como compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenos, e possuem atividades antioxidantes, prevenindo a oxidação celular (MENEZES *et al.*, 2010; MEDINA *et al.*, 2011; CHALANNAVAR *et al.*, 2013). O potencial exibido pelo araçá-vermelho chamou a atenção do Ministério do Meio Ambiente, que o incluiu em sua lista de espécies nativas produtoras de alimentos com capacidade para uso imediato ou futuro, em ecossistemas tropicais e subtropicais (LISBÔA *et al.*, 2011).

Em termos de propagação, as primeiras tentativas foram feitas utilizando-se estacas semilenhosas, em que se verificou que o araçazeiro é uma espécie de difícil enraizamento (NACHTIGAL *et al.*, 1994), fato que demonstra limitações de propagação assexuada para tal espécie, com baixas taxas de multiplicação. A principal forma de propagação é via sementes (RASEIRA *et al.*, 2004; LORENZI, 2008), que se apresentam em número de 5 a 250 por fruto, além da característica de haver pouca variabilidade genética, pelo fato de boa parte das sementes ser produzida por apomixia (FRANZÓN *et al.*, 2009).

No entanto as sementes de *Psidium cattleianum* Sabine L. têm características relacionadas a recalcitrância e dormência tegumentar, em virtude da baixa embebição da semente (LISBÔA *et al.*, 2011; MEDINA *et al.*, 2011), o que pode atrasar a germinação por vários anos e torná-la menos homogênea, não assegurando a produção de mudas. Além do mais, a espécie apresenta redução de sua qualidade fisiológica durante o armazenamento (CISNEIROS *et al.*, 2003). Diante disso, a aceleração e a uniformização da germinação das sementes são importantes para a produção de mudas em larga escala.

A biotecnologia, por intermédio da técnica de micropropagação, pode ser usada para a produção de grande quantidade de material em curto espaço de tempo, com ótimas condições fitossanitárias, e permite a propagação de espécies difíceis de serem multiplicadas por outros métodos (DAMIANI & SCHUCH, 2009), tornando-se uma alternativa promissora para a produção comercial de mudas (FARIA *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, a cultura de tecidos vegetais vem avançando nos estudos em relação à propagação de *Psidium cattleianum* Sabine L. (FREIRE *et al.*, 2017; FREIRE *et al.*, 2018). Diversos fatores incidem na resposta desejada e, de acordo com Marcos Filho (2005), o potencial hídrico, a concentração de sais e a presença de sacarose no meio de cultura para a germinação das sementes devem ser levados em consideração. A composição do meio de cultura tem função importante também nas respostas de crescimento de células e tecidos, já que plantas ou explantes cultivados *in vitro* possuem exigências nutricionais específicas e requerem meios nutritivos compostos por minerais, vitaminas e fontes de energia (BRAGA *et al.*, 2009).

Na cultura de tecidos vegetais, a utilização do meio de cultivo líquido ou geleificado pode alterar drasticamente o desenvolvimento *in vitro*, mesmo quando se emprega igual formulação do meio. Isso acontece por causa de diferenças no teor de umidade, disponibilidade e absorção de nutrientes (THORPE *et al.*, 2008). Além disso, existe a possibilidade de ocorrer um efeito osmótico. O ágar, um tipo de agente geleificante de natureza polissacarídica produzido por algas (CID, 2001), usado na cultura de tecidos para dar suporte aos explantes, representa um dos componentes mais caros para a propagação *in vitro* de plantas em larga escala (GALLO *et al.*, 2014).

Nesse sentido, o objetivo da presente pesquisa foi avaliar o efeito de diferentes estados físicos do meio de cultura e a eficiência de métodos de superação da dormência no estabelecimento *in vitro* de sementes de araçazeiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros de araçazeiro-vermelho foram coletados no pomar didático de plantas nativas do Centro de Ciências Agroveterinárias – Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV / Udesc), em Lages (SC). Em seguida, foram levados para o Laboratório de Micropropagação Vegetal, pertencente à mesma universidade, onde se extraíram as sementes por despulpamento manual e maceração dos frutos sobre peneiras.

As sementes foram colocadas para secar à sombra por quatro dias e, logo após, foram mantidas sob refrigeração (4°C) durante sete dias. Em seguida, foram lavadas previamente com água destilada e transferidas para câmara de fluxo laminar, onde se realizou a assepsia do material mediante imersão das sementes em álcool 70% durante um minuto. Logo após, as sementes foram colocadas em uma solução de hipoclorito de sódio 2,5% contendo três gotas de detergente comercial Tween 20® por 15 minutos e, a seguir, passaram por uma tríplice lavagem, com água destilada e autoclavada. Logo depois, imergiram-se as sementes em ácido sulfúrico concentrado (96%) ou água fervente (80°), ambos durante um minuto. Ressalta-se que a escolha do tempo de imersão não seguiu um protocolo específico.

O meio de cultura empregado para o estabelecimento da cultura foi o MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), com adição de sacarose (30 g L<sup>-1</sup>), mio-inositol (0,1 g L<sup>-1</sup>) e ajuste do pH para 5,7 ± 0,1. Os tubos de ensaio contendo os meios foram autoclavados a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos.

As sementes foram inseridas nos tubos de ensaio de acordo com os tratamentos, que diferiram quanto à consistência do meio – MS líquido com espuma fenólica ou MS com agente geleificante (6 g L<sup>-1</sup> de ágar) – e aos métodos de superação da dormência – imersão em ácido sulfúrico concentrado (96%) ou água fervente (80°C).

Os tubos de ensaio com os distintos tratamentos foram transferidos para a sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2°C e intensidade luminosa de 27 μmol.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>.

Aos 40 dias, realizaram-se análises do percentual de germinação e do comprimento médio de plântula (cm). Para calcular o índice de velocidade de germinação, as avaliações ocorreram em intervalos de dez dias, durante 40 dias, e empregou-se a fórmula proposta por Maguirre (1962):  $IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$ , em que G = número de plantas germinadas, N = período de dias em que houve germinação e n = tempo considerado. Foi contabilizada como germinada a semente que apresentou a protrusão da radícula.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial duplo 2x2 (estado físico do meio de cultura e métodos para superação da dormência), originando quatro tratamentos com cinco repetições, sendo cada repetição composta por seis tubos de ensaio, totalizando 120 sementes. Submeteram-se os dados obtidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e à análise de variância, e as médias, quando significativas, foram comparadas entre si por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por intermédio da análise de variância, verificou-se que não houve interação entre o estado físico do meio de cultura e os métodos para superação da dormência na germinação *in vitro* e no comprimento médio de plântulas de araçazeiro (tabela 1). Portanto, analisaram-se ambos os fatores de forma isolada.

**Tabela 1** – Análise de variância (Anova) para os fatores de variação nos dados de germinação e comprimento médio de plântulas de araçazeiro-vermelho estabelecidas *in vitro* em diferentes estados físicos do meio de cultura e métodos para superação da dormência.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio	
		Germinação (%)	Comprimento médio (cm)
Meio de cultura	1	28,03*	0,078*
Superação da dormência	1	9,57*	0,245*
Meio x superação	3	1,36	0,008
Erro	12	0,78	0,004
Coefficiente de variação (%)		12,07	5,35

O estado físico do meio nutritivo influenciou a germinação e também o comprimento médio das plântulas originadas. O percentual germinativo obtido com a utilização do meio líquido foi o dobro do constatado no meio com a presença do agente geleificante. Da mesma maneira, o maior comprimento médio de plântulas foi atingido no meio de cultura sem a presença de ágar (tabela 2).

**Tabela 2** – Percentual de germinação e comprimento médio de plântula (cm) de sementes de frutos de araçazeiro estabelecidas *in vitro* em diferentes estados físicos do meio de cultura.

	Líquido	Sólido
Germinação (%)	75 a*	37,5 b
Comprimento médio (cm)	1,10 a	0,39 b
Coefficiente de variação (%)	12,07	

\* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Os maiores percentuais de germinação com a utilização do meio líquido provavelmente decorrem da melhor hidratação dos tecidos no processo de germinação. Entre os principais fatores que afetam a hidratação dos tecidos, destacam-se o potencial osmótico dos meios de cultura e as concentrações de ágar. Assim, à medida que o potencial osmótico diminui e o potencial matricial muda, há menor hidratação dos tecidos e, conseqüentemente, menor absorção de água, o que dificulta o processo de germinação.

A melhor resposta obtida para a variável comprimento médio de plântulas com a utilização do meio de cultura líquido (figura 2) está relacionada com o aumento na superfície de contato com o meio, ocasionando maior difusão, absorção e reposição dos nutrientes *in vitro*, o que proporcionou melhor desenvolvimento das plântulas (PULLMAN & SKRYABINA, 2007). O ágar, além de ser o agente geleificante tradicionalmente usado em pesquisas (GORDO *et al.*, 2012), promove condições ideais de suporte. Porém altas concentrações dessa substância afetam a disponibilidade e a disseminação de outros componentes presentes no meio de cultura (CID, 2010), podendo gerar o aumento da resistência à difusão de sais e a diminuição do potencial hídrico em comparação ao meio líquido, tendo como conseqüência a inibição do crescimento (PEREIRA-NETO *et al.*, 2007). De acordo com George (1993), o explante também tem um contato menos eficiente com o meio de cultura solidificado, o que afeta a disponibilidade de macro e micronutrientes e impacta o crescimento das plantas.



**Figura 1** – Plântulas de araçazeiro estabelecidas *in vitro* em: A) meio de cultura líquido + espuma fenólica; B) meio de cultura sólido.

Dos métodos testados para superação da dormência das sementes de araçazeiro, a imersão em água quente (80°C) durante um minuto mostrou-se mais eficiente, propiciando os maiores percentuais germinativos e o maior comprimento médio de plântulas (tabela 3).

**Tabela 3** – Percentual de germinação e comprimento médio de plântula (cm) de sementes de frutos de araçazeiro estabelecidas *in vitro* em diferentes métodos de superação da dormência.

	Água fervente 80°C	Ácido sulfúrico 96%
Germinação (%)	66 a*	46 b
Comprimento médio (cm)	0,96 a	0,48 b
Coefficiente de variação (%)	5,35	

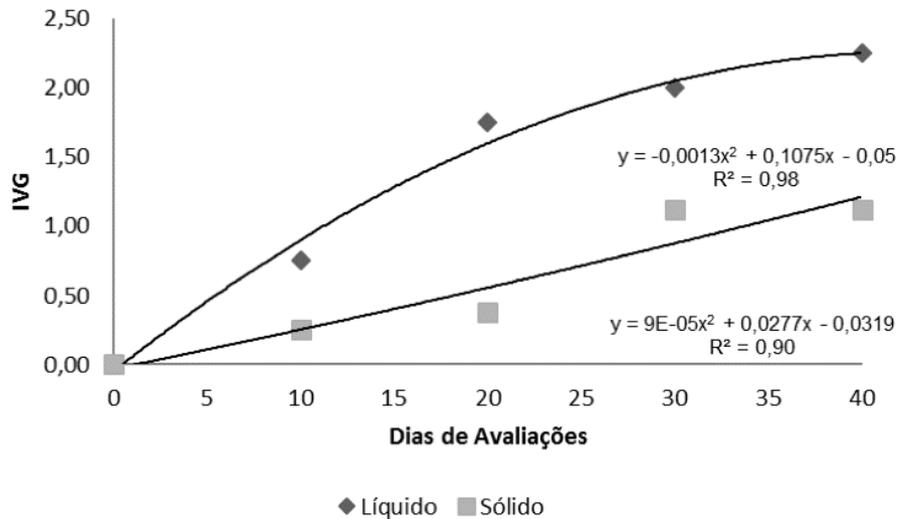
\* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

O aumento da germinação, graças à temperatura de 80°C, conseguiu promover o amolecimento do tegumento de *Psidium cattleianum* Sabine L. e possibilitou a embebição da semente e, com isso, o rompimento da dormência tegumentar. Resultados semelhantes foram encontrados por Tomaz *et al.* (2011), que, ao estudar métodos de superação da dormência em sementes de araçazeiro, verificaram que o armazenamento das sementes em geladeira com posterior imersão em água a 80°C por 25 segundos apresentou maior índice de germinação. Segundo Oliveira *et al.* (2003), a utilização de água quente é um método eficiente, prático e de baixo custo na promoção da germinação.

Tratamentos com ácidos são usados para promover fissuras no tegumento das sementes que possuem casca impermeável. O tempo de permanência é de grande importância, pois as sementes devem ser retiradas imediatamente antes que o ácido penetre no tegumento. Com os resultados obtidos no presente ensaio, foi possível constatar que o tempo de imersão das sementes em ácido sulfúrico durante um minuto não foi suficiente para superar de maneira efetiva a dormência em sementes de *Psidium cattleianum* Sabine L. Freire *et al.* (2017), em seu experimento com diferentes métodos para superar a dormência de sementes de araçazeiro *in vitro*, observaram que as maiores porcentagens de germinação e o maior índice de velocidade de germinação de sementes de araçazeiro são obtidos com a imersão em ácido sulfúrico durante 20 minutos. Entretanto Baskin & Baskin (2014) sugerem que o tempo para a escarificação ácida de sementes com dormência tegumentar deva ser cuidadosamente testado, já que tempos ligeiramente acima do ideal podem danificar o

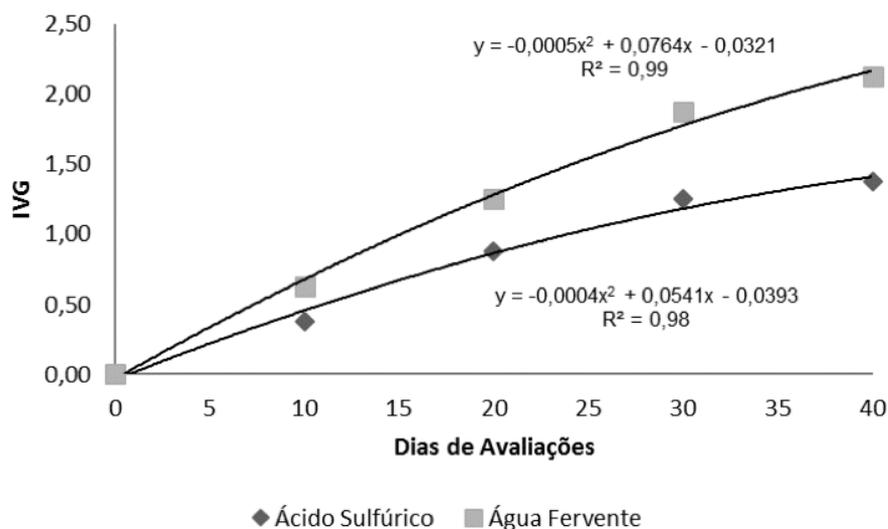
embrião e impedi-lo de germinar. Os mesmos autores citam que a adição de ácidos concentrados altera o pH das soluções que envolvem o embrião, interferindo na germinação das sementes, pois cada espécie apresenta uma faixa limitada de pH ou ainda um pH específico para germinação.

O índice de velocidade de germinação (IVG), no cultivo das sementes em meio de cultura líquido, evidenciou valores superiores em relação ao cultivo em meio de cultura sólido em todos os dias em que foram feitas as avaliações (figura 2).



**Figura 2** – Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de frutos de araçazeiro estabelecidas *in vitro* em diferentes estados físicos do meio de cultura.

Alcançaram-se os melhores resultados para IVG quando a superação da dormência foi efetuada com água fervente a 80°C, em todos os dias de observação (figura 3).



**Figura 3** – Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de frutos de araçazeiro estabelecidas *in vitro* em diferentes métodos de superação da dormência.

O maior IVG obtido com a utilização do meio de cultura líquido e com o método de superação da dormência em água fervente evidencia o potencial desses métodos em favorecer o desenvolvimento de plântulas. De acordo com Oliveira *et al.* (2009), quanto maior o IVG, mais vigorosas são as sementes.

## CONCLUSÃO

O meio de cultura líquido é o mais indicado para germinação *in vitro* de sementes de araçazeiro. O uso de água quente (80°C) durante um minuto é o método mais eficiente para a superação da dormência de sementes de *Psidium cattleianum* Sabine L.

## REFERÊNCIAS

- Baskin, C. C. & J. M. Baskin. Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. 2. ed. Kentucky: Academic Press; 2014. 1585 p.
- Braga, F. T., C. F. Nunes, A. C. Favero, M. Pasqual, J. G. de Carvalho & E. M. de Castro. Características anatômicas de mudas de morangueiro micropropagadas com diferentes fontes de silício. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 2009; 44(2): 128-132.  
doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2009000200003>
- Chalannavar, R. K., V. K. Narayanaswamy, H. Baijnath & B. Odhav. Chemical constituents of the essential oil from leaves of *Psidium cattleianum* var. *cattleianum*. Journal of Medicinal Plants Research. 2013; 7(13): 783-789.  
doi: <https://doi.org/10.5897/JMPR12.929>
- Cid, L. P. B. A propagação *in vitro* de plantas. O que é isso? Cultura de tecidos vegetais – uma ferramenta fundamental no estudo da biologia moderna de plantas. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento. 2001; 3(7): 17-21.
- Cid, L. P. B. Cultivo *in vitro* de plantas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; 2010. 303 p.
- Cisneiros, R. A., V. P. Matos, M. A. Lemos, O. V. Reis & R. M. Queiroz. Physiological quality of seeds of *Psidium guineense* Swartz during storage. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. 2003; 7(3): 513-518.  
doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662003000300018>
- Damiani, C. R. & M. W. Schuch. Enraizamento *in vitro* de mirtilo em condições fotoautotróficas. Ciência Rural. 2009; 39(4): 1012-1017.  
doi: <http://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000031>
- Faria, R. T., A. M. de Assis, L. K. Unemoto & J. F. R. P. de Carvalho. Produção de orquídeas em laboratório. Londrina: Mecenas; 2012. 124 p.
- Franzón, R. C., L. Z. de O. Campos, C. E. B. Proença & J. C. Souza-Silva. Araçás do gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrências, descrição e usos. Planaltina: Embrapa Cerrados; 2009. 48 p.
- Freire, C. G., J. P. P. Gardin, C. M. Baratto & R. L. Vieira. Different methods for overcoming integumental dormancy during *in vitro* germination of red araza seeds. Journal of Agricultural Science. 2017; 9(1): 174-183.
- Freire, C. G., J. P. P. Gardin, C. M. Baratto, R. L. Vieira & S. S. Werner. Micropropagation's complete protocol of red araçá (*Psidium cattleianum*, Myrtaceae) from germinated seeds *in vitro*. Journal of Agricultural Science. 2018; 10(2): 234-251.  
doi: <https://doi.org/10.5539/jas.v10n2p234>

Gallo, F. R., B. C. Kuhn & M. A. Milaneze-Gutierrez. Cultivo *in vitro* de *Cattleya loddigesii* (Orchidaceae) sobre suportes alternativos ao ágar. *SaBios: Revista de Saúde e Biologia*. 2014; 9: 17-22.

Gaspar, A. L., L. Sevegnani, A. C. Vibrans, M. Sobral, A. Uhlmann, D. V. Lingner, M. J. Rigon-Júnior, M. Verdi, A. Stival-Santos, S. Dreveck & A. Korte. Inventário florístico florestal de Santa Catarina: espécies da floresta ombrófila mista. *Rodriguésia*. 2013; 64(2).  
doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S2175-78602013000200001>

George, E. F. *Plant propagation by tissue culture*. Edington, England: Exergetics Ltd.; 1993. 574 p.

Gordo, D. A. M., O. C. Gonzalez & J. C. Pacheco. Sustancias utilizadas como agente gelificante alternativas al agar en medios de cultivo para propagación *in vitro*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*. 2012; 3: 49-62.

Lisbôa, G. N., V. F. Kinupp & I. B. I. de Barros. *Psidium cattleianum*: araçá. In: Coradin, L., A. Siminski & A. Reis. *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul*. Brasília: MMA; 2011. v. 1, p. 205-208.

Lorenzi, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil*. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2008. 384 p.

Maguirre, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*. 1962; 2(2): 176-177.

Marcos Filho, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: FEALQ; 2005. 495 p.

Medina, A. L., L. I. R. Haas, F. C. Chaves, M. Salvador, R. C. Zambiasi, W. P. da Silva, L. Nora & C. V. Rombaldi. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. *Food Chemistry*. 2011; 128: 916-922.  
doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.119>

Menezes, T. E. C. de, A. C. B. Delbem, F. L. Brighenti, A. C. Okamoto & E. Gaetti-Jardim Junior. Protective efficacy of *Psidium cattleianum* and *Myracrodruon urundeuva* aqueous extracts against caries development in rats. *Pharmaceutical Biology*. 2010; 48(3): 300-305.  
doi: <https://doi.org/10.3109/13880200903122202>

Murashige, T. & F. A. Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco culture. *Physiologia Plantarum*. 1962; 15: 473-497.

Nachtigal, J. C., A. Hoffmann, R. A. Kluge, J. C. Fachinello & A. R. A. Mazzini. Enraizamento de estacas semilenhosas de araçazeiro (*P. cattleyanum* Sabine) com o uso do ácido indolbutírico. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 1994; 16: 229-235.

Oliveira, A. C. S., G. N. Martins, R. F. Silva & H. D. Vieira. Teste de vigor em sementes baseado no desempenho de plântulas. *Revista Científica Internacional*. 2009; 1(4): 1-21.

Oliveira, L. M., A. C. Davide & M. L. M. de Carvalho. Avaliação de métodos para quebra da dormência e para a desinfestação de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (sprengel) Taubert). *Revista Árvore*. 2003; 27(5): 597-603.  
doi: [https:// dx.doi.org/10.1590/S0100-67622003000500001](https://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622003000500001)

- Pereira-Neto, A., C. L. O. Petkowicz, C. T. A. Cruz-Silva, M. T. Gazzoni, A. F. P. Mello & J. L. M. Silveira. Differential performance of marubakaido apple rootstock shoots grown in culture media containing different agar brands: dynamic rheological analysis. *In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2007; (43): 356-363.
- Pullman, G. S. & A. A. Skryabina. Liquid medium and liquid overlays improve embryogenic tissue initiation in conifers. *Plant Cell Reports*. 2007; 26(3): 873-887.
- Raseira, M. C. B., L. E. C. Antunes, R. Trevisan & E. D. Gonçalves. Espécies frutíferas nativas do sul do Brasil. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; 2004. 124 p.
- RBMA – Reserva da Biosfera da Mata Atlântica. Anuário da mata atlântica: aspectos gerais da biodiversidade. São Paulo; 2018. [Acesso em: 1.º ago. 2018]. Disponível em: [http://www.rbma.org.br/anuario/mata\\_04\\_aspectos.asp](http://www.rbma.org.br/anuario/mata_04_aspectos.asp).
- Santos, M. A. C., M. A. Queiroz, A. S. Santos, L. C. Santos & P. C. S. Carneiro. Diversidade genética entre acessos de araçá de diferentes municípios do semiárido baiano. *Revista Caatinga*. 2014; 27(2): 48-57.
- Sobral, M., C. Proença, M. Souza, F. Mazine & E. Lucas. Myrtaceae. In: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Lista de espécies da flora do Brasil. Rio de Janeiro; 2014. [Acesso em: 14 jan. 2014]. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>.
- Thorpe, T., C. Stasolla, E. C. Yeung, G.-J. De Klerk, A. Roberts & E. F. George. The components of plant tissue culture media. II: Organic additions, osmotic and pH effects and support systems. In: George, E. F., M. A. Hall, G.-J. De Klerk (eds.). *Plant propagation by tissue culture*. 3. ed. Dordrecht: Springer; 2008. v. 1, The Background, p. 115-175.
- Tomaz, Z. F. P., S. P. Galarça, C. S. M. Lima, D. L. Betemps, M. A. Gonçalves & A. R. Rufato. Tratamentos pré-germinativos em sementes de araçazeiro (*Psidium cattleyanum* Sabine L.). *Revista Brasileira de Agrociência*. 2011; 17(1-4): 60-65.