



Scientific Electronic Archives (7): 81-88, 2014.

Germinação e Multiplicação de Cravo Utilizando Bap e Cin *in Vitro*

Germination and Multiplication of Carnation Using Bap and Kin *in Vitro*

D. P. Restelatto ¹, T. Gerber ², L. M. Sartoretto ²⁺

¹ Universidade do Oeste de Santa Catarina

² Faculdade Concórdia

* Address for correspondence: sartorettolau@yahoo.com.br

Resumo

Visando o estabelecimento de um sistema de multiplicação *in vitro* para o cravo, as sementes foram desinfestadas em hipoclorito de sódio e inoculadas em meio MS. Na indução de gemas axilares utilizou-se o BAP e Cinetina (CIN), nas concentrações de 0; 2,0 e 4,0 mg/L. Adicionou-se, 3% (p/v) de sacarose, 0,6 (p/v) de ágar e o pH \pm 5,8. Após 40 dias da inoculação das sementes, avaliou-se a germinação. As melhores médias de germinação ocorreram nos tratamentos T1 (0 min no hipoclorito) e T3 (10 min no hipoclorito) (9,0 e 8,75), respectivamente, diferindo estatisticamente do T2 (5 min no hipoclorito) (3,75). Na formação de gemas axilares, o tratamento T1 (2,0 mg/L de BAP) apresentou (7,1 gemas/explante). Já o tratamento T3 (4,0 mg/L de BAP) apresentou (5,5 gemas/explante), sendo que o T1 (zero de BAP) apresentou estatisticamente a menor formação de gemas (3,73 gemas/explantes). Para a CIN, observou-se que a melhor resposta (5,6 e 5,1 gemas/explantes) foram nos tratamentos T1 (0 de CIN) e T3 (4,0 mg/L de CIN), sendo que, no T2 (2,0 mg/L de CIN) apresentou a menor formação de gemas (2,7 gemas /explantes). Desta forma, o hipoclorito de sódio foi efetivo na descontaminação e os hormônios BAP e CIN foram eficientes para a indução de gemas.

Palavras-chave: sementes; gemas axilares; germinação

Abstract

Aiming to establish a system of *in vitro* multiplication for the harpsichord, the seeds were sterilized in sodium hypochlorite and inoculated in MS. The induction of axillary buds used the BAP and Kinetin (KIN) at concentrations of 0; 2,0 and 4,0 mg/L. Was added, 3% (w/v) sucrose, 0,6 (w/v) agar and the pH \pm 5.8. 40 days after the inoculation of seeds, germination was evaluated. The best average germination occurred in T1 (0 min in hypochlorite) and T3 (10 min in hypochlorite) (9,0 and 8,75) treatments, respectively, differing T2 (5 min in hypochlorite) (3,75). In the formation of axillary buds, treatment T1 (2,0 mg / L BAP) presented (7,1 buds / explant). Have the treatment T3 (4,0 mg /L BAP) presented (5,5 buds / explant), and T1 (zero BAP) statistically had the lowest bud formation (3,73 buds / explant). For CIN, it was observed that the best response (5,6 and 5,1 buds/explants) were in the T1 (0 CIN) and T3 (4.0 mg /L KIN) treatments whereas in T2 (2,0 mg /L CIN) had the lowest bud formation (2,7 buds /explant) . Thus, sodium hypochlorite was effective in decontaminating and BAP and KIN hormones were effective for inducing gems.

Keywords: seeds; axillary buds; germination

Introdução

Com o advento da globalização o mercado mundial de flores e plantas ornamentais que, inicialmente estava concentrada em alguns países europeus como, Holanda, Itália, Dinamarca e Japão, passou a ser cultivadas em outros países como, Colômbia, Equador, Costa Rica, Israel, África do Sul e Espanha. Esta expansão ocorreu visando baixar os custos de produção, através de plantios em regiões de condições climáticas favoráveis e com maior disponibilidade de mão de obra (Thomaz & Negrelle, 2007).

O agronegócio de flores e plantas ornamentais no Brasil, além de gerar empregos e poder ser praticado em áreas de agricultura familiar, acumulou em 2006 um montante de US\$ 24,2 milhões em exportação, um crescimento de 16,1% em relação ao mesmo período de 2005 (de US\$ 20,9 milhões). Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), existem 2.500 produtores de flores no Brasil, gerando em torno de 300.000 empregos diretos e indiretos. Tal fato mostra a importância da floricultura na redução da evasão agrária e na melhoria da qualidade de vida do trabalhador rural (Castro, 2007).

O cravo (*Dianthus caryophyllus* L.) é uma das espécies ornamentais mais cultivadas pela beleza de suas flores, sendo estas, vermelhas, brancas, lilás ou rosa, apresentando cinco pétalas em forma de cunha. Os diversos tipos, hoje cultivados, são produtos de métodos avançados de melhoramento e formam um grupo de plantas de grande importância para os horticultores (Peixoto, 1998).

Atualmente, os sistemas de produção de plantas ornamentais evoluíram muito. É uma atividade extremamente competitiva que exige tecnologias e conhecimento avançado para uma eficiente comercialização (Pasqual et al., 2008). A produção de plantas ornamentais a partir de técnicas de cultivo *in vitro* é uma alternativa viável, pois resulta na obtenção de um grande número de plantas com qualidade genética em curto espaço de tempo, fornecendo aos produtores de

flores e plantas ornamentais a aquisição de mudas com qualidade comprovada (Pasqual et al., 2008).

A micropropagação é uma técnica que permite propagar um elevado número de plantas de genótipos selecionados, em área física bastante reduzida, se comparada com os métodos convencionais. Além disso, possibilita a obtenção de plantas com maior sanidade, vigor e tamanho padronizado permitindo um manejo mais adequado do cultivo (Souza et al., 2007).

Com o intuito de cultivar espécies de cravo *in vitro*, este trabalho objetivou estabelecer um sistema de multiplicação *in vitro* do cravo (*Dianthus caryophyllus* L.), para posterior estudo em programas de melhoramento dessa espécie.

Métodos

Desenvolvimento do estudo

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, pertencente à Área de Ciências Exatas e da Terra da Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC) – Campus I Xanxerê.

Material vegetal

O material vegetal utilizado foram sementes de cravo (*Dianthus caryophyllus* L.) obtidas da empresa Sementes Vidasul e, adquiridas no Supermercado Máximo, localizado na cidade de Xanxerê/SC. As sementes foram compradas em novembro de 2012 na cidade de Xanxerê - SC, sendo armazenadas em geladeira sob temperatura de 2°C a 5°C.

Desinfestação e germinação das sementes

As sementes foram submetidas a diferentes procedimentos visando a desinfestação: a) lavagem com água destilada autoclavada e uma gota de detergente durante 5 minutos. b) um enxágue com água destilada autoclavada para remoção do detergente. c) imersão em álcool etílico 70% por um minuto. Após, foram colocadas em hipoclorito de sódio na concentração de 2,5% durante 0 (zero); 5 e 10 minutos,

como forma de desinfestação mais específica. Em seguida, as sementes dos três tratamentos foram submetidas a três enxágues com água destilada autoclavada, e secadas em papel filtro autoclavado.

Após a contagem e desinfestação, as sementes foram inoculadas em tubos de ensaio contendo aproximadamente 15 ml do meio nutritivo MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 3% (p/v) de sacarose, 6,0 g/L de ágar e o pH ajustado para $\pm 5,8$ antes da autoclavagem. A mistura de sais basais MS usado para o preparo dos meios de cultivo foi adquirido da Empresa Sigma Life Science®.

As sementes foram inoculadas em meio de cultivo MS e, após um período de 40 dias, efetuou-se a avaliação da germinação para a obtenção das plântulas *in vitro*.

Indução das gemas axilares

Para a indução de multibrotações *in vitro*, utilizaram-se como explantes, segmentos nodais isolados de plântulas de cravo germinadas *in vitro*, com 40 dias de idade. O meio nutritivo utilizado foi o MS, suplementado com os reguladores de crescimento BAP (6-benzilaminopurina) e CIN (Cinetina), nas concentrações de 0; 2,0 e 4,0 mg/L. Foram adicionados também 3% (p/v) de sacarose, 0,6 (p/v) de ágar e o pH ajustado para $\pm 5,8$ antes da autoclavagem. Em seguida, os meios foram distribuídos em tubos de ensaio e autoclavados durante 15 minutos a uma temperatura de 121°C. Todos os procedimentos foram realizados em câmara de fluxo laminar, em condições assépticas.

Após a inoculação em meios nutritivos, as culturas foram mantidas em salas de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar em torno de 70%.

Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado para testar o efeito do hipoclorito de sódio, foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3 x 4, com quatro

repetições, sendo que cada repetição continha dez frascos, totalizando 40 frascos para cada tratamento.

O delineamento experimental utilizado para testar o efeito de BAP e CIN, foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3 x 3, com três repetições, sendo que cada repetição continha dez frascos, totalizando 30 frascos (1 explante/ frasco) para cada tratamento. A comparação entre as médias dos tratamentos foi realizada pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro, através do programa *Assistat 7,6* beta.

Os dados analisados foram: porcentagem de sementes germinadas e número de brotos formados por explante.

Resultados e discussão

A germinação das sementes de cravo e a emergência das primeiras plântulas foram observadas após 10 dias de cultivo (Figuras 2A e 2B).

Conforme observado na tabela 1, as melhores médias de germinação (9,0 - 8,75) das sementes de cravo ocorreram nos tratamentos T1 e T3, respectivamente, diferindo, porém, do tratamento T2, o qual apresentou uma média de germinação de 3,75. De acordo com os resultados, pode-se dizer que a desinfestação com o hipoclorito de sódio foi efetiva, uma vez que, praticamente não ocorreu contaminação por microrganismos (fungos e bactérias) nas plântulas em cultivo. Segundo Muniz et al. (2007), o hipoclorito de sódio apresenta eficiência na redução de microrganismos associados superficialmente as mesmas. O mecanismo de ação do cloro ativo, substância encontrada no hipoclorito de sódio, não é bem conhecido, embora, algumas hipóteses surgiram que há uma combinação com proteínas da membrana celular dos microrganismos, assim formando compostos tóxicos elevando a inibição das enzimas essenciais (Donini et al., 2005).

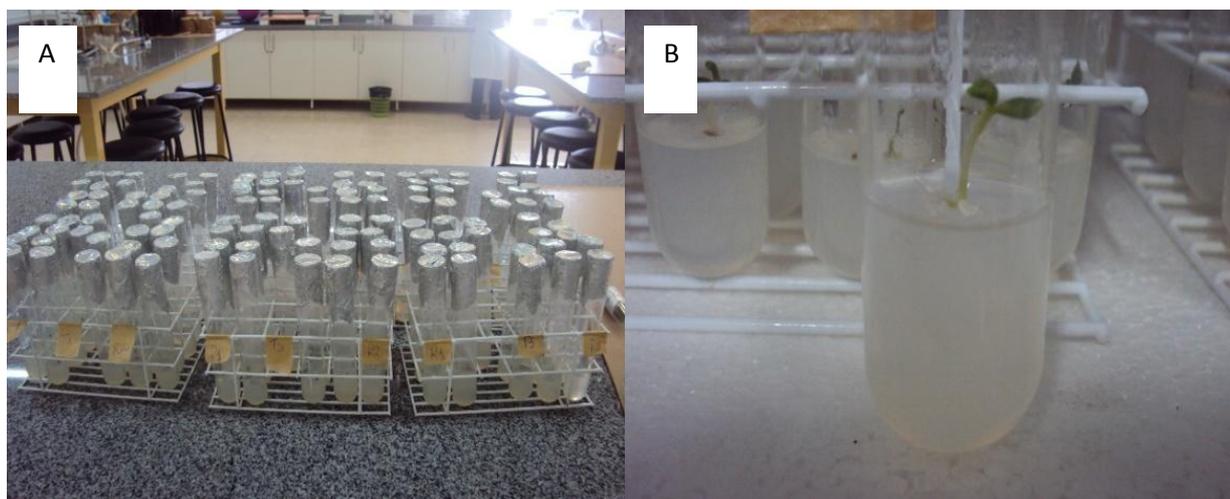


Figura 1: (A) Sementes de cravo inoculadas em meio MS; (B) plântula de cravo *Dianthus caryophyllus*, germinada *in vitro*

A baixa taxa de germinação do presente trabalho, ocorrida no tratamento T2 (5 min de exposição), não foi influenciada pelo NaOCl, uma vez que, os

melhores resultados ocorreram nos tratamentos que obtiveram 10 min de imersão na solução asséptica.

Tabela 1. Médias de germinação de sementes de *Dianthus caryophyllus* L, cultivadas em meio MS, depois de submetidas a diferentes tratamentos de desinfestação

Germinação das sementes de <i>Dianthus caryophyllus</i> L.		
Tratamentos	Média	Tukey ($\alpha = 0,05$)
1	9,00	a
2	3,75	b
3	8,75	a

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro

Nascimento et al. (2007), verificaram a concentração e o tempo do hipoclorito de sódio (0; 2,5 e 5,0) (v/v) durante 5; 10; 15 e 30 minutos em sementes de *Parapiptadenia rigida*, e perceberam que não houve diferença significativa entre a concentração do NaOCl e os tempos de imersão na ocorrência de microorganismos, mas verificaram que as sementes submetidas a 2,5% de hipoclorito de sódio, durante 5 e 30 minutos não apresentaram contaminação, quando comparados aos demais tratamentos que evidenciaram algumas ocorrências de fungos e bactérias. Além disso, os autores perceberam que, a taxa de germinação ocorrida nos tratamentos com 5% de hipoclorito de sódio por 15 min e 2,5% de hipoclorito de sódio por 30 min apresentaram médias de germinação de 85 a 80% respectivamente. Couto et al.

(2004), avaliaram a germinação de sementes de mogno e encontraram as maiores porcentagens de germinação (48%) com 2,5% de hipoclorito de sódio durante 30 min. Estes resultados corroboram com o presente trabalho, pois o mesmo apresentou as melhores porcentagens de germinação em médias de exposição ao agente asséptico de 2,5% em tempo de exposição em 10 min, mas também apresentou médias de germinação maiores com 2,5% do NaOCl em 0 min de exposição.

Heberle (2010), ao estudar sementes de louro pardo, observou diferentes resultados ao utilizar como tratamento o hipoclorito de sódio. Ao usar uma concentração de 5% de NaOCl, observou uma menor porcentagem de germinação das sementes. Além disso, a dosagem do desinfestante, nos maiores tempos em

imersão, provocou a necrose de radículas. De acordo com o autor, esses resultados podem ser explicados pelo efeito fitotóxico do hipoclorito de sódio, pois a utilização de elevadas concentrações deste produto, podem ser vantajosas na desinfestação das sementes, porém, podem se tornar prejudiciais à germinação. Este fato ocorrido, não foi observado no presente trabalho, uma vez que, as melhores médias de germinação ocorreram nos tratamentos com 2,5% de NaOCl em 10 min de exposição. Talvez, se fosse utilizado maiores concentrações deste agente desinfestante poderia ocasionar efeitos deletérios para a germinação.

Segmentos nodais de plântulas obtidas *in vitro*, foram usados como explantes na indução de gemas axilares (Figura 2). Conforme, pode ser observado na tabela

2, o regulador de crescimento 6-benzilaminopurina (BAP), na concentração de 2,0 mg/L (T2), mostrou ser mais efetivo na formação média de gemas axilares com 7,1 gemas/explante, quando comparado com o tratamento T3 (4,0 mg/L de BAP) que apresentou 5,5 gemas/explante e o tratamento T1 (zero mg/L de BAP) que mostrou (3,73 gemas/ explante), ou seja, a menor formação de gemas axilares.

Araújo et al. (2004), em trabalho desenvolvido com gloxínia, obtiveram 3,5 brotos por explante ao utilizarem 2,25 mg/L de BAP em meio MS contendo 50% de sais. Este número é menor que o obtido no presente estudo. Supõe-se que, este resultado tenha sido talvez, influenciado pela concentração dos sais minerais e pela espécie estudada.



Figura 2. Segmentos nodais de cravo (explantes) obtidas *in vitro* e utilizadas na indução de multibrotações.

Estudos com a violeta-africana apresentaram os melhores resultados na formação de brotos, utilizando como explantes, tufo de brotações das cultivares de violeta-africana *Optimara miki*, *Optimara maki* e *Optimara akemi*. Para a cultivar do tipo *Optimara akemi*, o número total de brotos obtidos, aumentou até à concentração de 1,78 mM de BAP. Já para *Optimara miki* a melhor resposta obtida foi com uma concentração intermediária, a qual variou de 1,78 a 3,08 mM de BAP. Para *Optimara maki*, o número de brotos formados aumentou até

a concentração 3,08 mM de BAP (Lucas et al., 2007).

Gonçalves (2007) trabalhou com *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez, e verificou que o tratamento com 0,89 μ M de BAP permitiu a obtenção do maior número de brotos (2,2), não diferindo, porém, dos obtidos na concentração de 0,44 μ M de BAP que foi 1,7 brotos.

Pasqual et al. (2008), ao estudarem o abacaxizeiro ornamental (*Ananas comosus* L.), observaram que na ausência de ágar, as concentrações de BAP promoveram um aumento linear na formação de brotos,

alcançando o número máximo de 21 brotos por explante ao utilizarem 1,5 mg/L de BAP. Segundo, Zaerr & Mapes (1985), o BAP é a citocinina mais potente para

promover a multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias e é também economicamente mais viável por apresentar o menor custo.

Tabela 2. Formação média de gemas axilares de cravo (*Dianthus caryophyllus* L), obtidas em meio de cultivo MS, suplementado com 6-benzilaminopurina

Indução das gemas axilares de <i>Dianthus caryophyllus</i> L			
Tratamentos	Concentrações de BAP em mg/L	Média	Tukey ($\alpha = 0,05$)
T1	0,0 mg/L	3,73	b
T2	2,0 mg/L	7,1	a
T3	4,0 mg/L	5,5	ab

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Em estudos desenvolvidos com Crisântemo da cv. White Polaris, Chagas et al. (2004), obtiveram maior número de brotos (2,45) usando 1,4 mg/L de BAP associado a 0,014 mg/L de ANA (ácido naftalenoacético). Na mesma concentração de BAP e utilizando-se 0 (zero) e 0,14 mg/L de ANA, os autores obtiveram 2,4 e 2,34 brotos/explante, respectivamente.

Estudos com propagação *in vitro* de porta-enxerto de pereira "old home" x "farmingdale", Mello-Farias et al. (1996), obtiveram os melhores resultados (4,46 brotos/explante) no tratamento 5, o qual continha no meio de cultivo 2,0 mg/L de BAP, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Nascimento et al. (2008), não observaram diferenças significativas na formação do número médio de gemas,

quando os explantes caulinares de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess) foram submetidos à diferentes concentrações de BAP. Observaram, porém, a formação de brotações em todos os tratamentos testados, mesmo na ausência do regulador de crescimento.

Como observado na tabela 3, para o regulador de crescimento cinetina (CIN), a maior formação média de gemas (5,6 - 5,1) foram obtidas nos tratamentos T2 com 2,0 mg/L de CIN e T3 com 4,0 mg/L de CIN, diferindo apenas do T1 (0,0 mg/L de CIN), com 2,7 gemas/explantes, obtendo-se uma variação média na formação de 2,7 a 5,6 gemas/explantes. Supõe-se que, a cinetina influencia na formação de gemas axilares, uma vez que, quando se aumentou as concentrações deste regulador de crescimento, ocorreu uma multiplicação *in vitro* do cravo.

Tabela 3. Formação média de gemas axilares de cravo (*Dianthus caryophyllus* L), obtidas em meio de cultivo MS, suplementado com cinetina

Indução das gemas axilares de <i>Dianthus caryophyllus</i> L			
Tratamentos	Concentrações de CIN	Média	Tukey ($\alpha = 0,05$)
T1	0,0 mg/L	2,7	b
T2	2,0 mg/L	5,6	a
T3	4,0 mg/L	5,1	a

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Segundo Cabral et al. (2003), o uso de cinetina em *Brachiaria* sp, nas concentrações de 3 mg/L ou 6 mg/L, induziram o desenvolvimento de um ou dois brotos por gema de *B. brizantha*, em meio de cultura LS (Linsmaier & Skoog,

1965), indicando que o balanço hormonal não foi suficiente para induzir a multibrotação. Por outro lado, ao duplicarem a concentração de cinetina no meio de cultivo, os autores observaram

múltiplos brotos após duas semanas em cultivo.

Pimentel et al. (2005), trabalhando com o Ipê-roxo (*Handroanthus avellanedae*) constataram em todas as variáveis analisadas, que não houve diferença significativa entre as doses de BAP ou CIN testadas, 45 dias após a inoculação *in vitro*. Estes resultados sugerem que explantes de ipê-roxo, obtidos de plântulas estabelecidas *in vitro*, apresentam habilidade natural para a brotação, podendo ser dispensado o uso de citocininas durante o processo de multiplicação *in vitro*.

Silva et al. (2008), trabalhando com multiplicação *in vitro* de gemas laterais de *Dyckia maritima* Baker (Bromeliaceae), obtiveram os melhores resultados (75 - 55 gemas) respectivamente, com 2,0 µM de CIN e BAP, sendo os resultados obtidos com CIN significativamente superiores àqueles encontrados com BAP. Na regeneração de brotos os dados obtidos com CIN também foram superiores aos encontrados com BAP.

Estes trabalhos revelam que o BAP e a CIN apresentam elevado potencial de indução de gemas axilares, pois quando foram utilizadas concentrações destes reguladores de crescimento apresentaram elevado potencial de brotação, visto que, o presente trabalho, também apresentou esta função.

Conclusão

De acordo com os dados analisados pode-se concluir que:

- O hipoclorito de sódio foi efetivo na descontaminação e não influenciou na germinação das sementes de cravo;
- O BAP e a cinetina (CIN) influenciaram a indução de gemas axilares de cravo.

Referências

ARAÚJO, A. G.; FIORINI, C. V. A.; PASQUAL, M.; SILVA, A. B. da.; VILLA, F. Multiplicação *in vitro* de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.). **Revista Ceres**, 51 (293): 117-127, 2004.

CABRAL, G. B.; PIRES, M. V. V.; LACERDA, A. L.; CARNEIRO, V. T. de C. Introdução *in*

vitro, micropropagação e conservação de plantas de *Brachiaria* sp. Brasília DF, 2003. 4 p. (**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. Comunicado Técnico, 101).

CASTRO, R. C. A. de. **Deficiência de macronutrientes em Helicônia Golden Torch**. Recife, 2007, 102 p.

CHAGAS, E. A.; FRÁGUAS, C. B.; SILVA, E. F. DA.; PASQUAL, M.; MENDONÇA, V. Multiplicação *in vitro* de Crisântemo cv. White Polaris. R. **Bras. Agrocência**, v. 10, n. 1, p.123-126, 2004.

COUTO, J. M. F.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, A. L.; FONSECA, E. P. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n.5, p. 633-642, 2004.

DONINI, L. P.; FERREIRA-MOURA, I.; GUISSO, A. P.; SOUZA, J. A. de.; VIÉGAS, J. Preparo de lâminas foliares de aráceas ornamentais: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.4, p.517-522, 2005.

GONÇALVES, J. C.; MARCHUETA, M.; DIOGO, G. Influência da benzilaminopurina e da cinetina na micropropagação de plantas jovens de *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez, **Cernas**, 2007, 7 p.

HEBERLE, M. **Propagação *in vitro* e *ex vitro* de Louro-Pardo (*Cordia trichotoma* (Vell.) Arrabida ex Steudel)**. Santa Maria, 2010, 75p.

LUCAS, M. A. K.; FAGUNDES, J. D.; PEREIRA, D. D.; SARMENTO, M. B. Micropropagação de violeta-africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl.): Efeito da benzilaminopurina na multiplicação. Lavras, **Ciênc. Agrotec**, v. 31, n. 5, p. 1380-1385, 2007.

MELLO-FARIAS, P. C.; PETERS, J. A.; NAKASU, B. H. Micropropagação de porta-enxerto de pereira, "old home" x "farmingdale". **Revista Brasileira de Agrocência**, Pelotas, v. 2, n. 2, p. 71-78, 1996.

- MUNIZ, M. F. B.; SILVA, L. M.; BLUME, E. Influência da assepsia e do substrato na qualidade de sementes e mudas de espécies florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n.1, p. 140-146, 2007.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-497, 1962.
- NASCIMENTO, P. K. V do.; FRANCO, E. T. H.; FRASSETTO, E. G. Desinfestação e Germinação *in vitro* de sementes de *Parapiptadenia rígida* Bentham (Brenam). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 141-143, jul. 2007.
- NASCIMENTO, A. da C.; PAIVA, R.; ABBADE, L. C.; VARGAS, D. P.; SOARES, F. P. Micropropagação de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess): efeitos do BAP e AIB. **Revista Verde de Agroecologia e desenvolvimento sustentável**, Limoeiro, v.3, n.2, p.20-26, 2008.
- PASQUAL, M.; SANTOS, F. C.; FIGUEIREDO, M. A. de.; JUNQUEIRA, K. P.; REZENDE, J. C. de.; FERREIRA, E. A. Micropropagação do abacaxizeiro ornamental. **Hortic. bras.**, v. 26, n. 1, jan.-mar, 2008.
- PEIXOTO, A. M. FERRAZ, F.; REICHARD, K.; SOUZA, J. S. I. de. **Enciclopédia agrícola brasileira**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, v 2. 1998, 630p.
- PIMENTEL, N.; HEBERLE, M.; KIELSE, P.; LENCINA, K. H.; FISCHER, H.; SCHWALBERT, R.; RAUBER, M. A.; BISOGNIN, D. A. **Efeito de bap e cinetina na multiplicação *in vitro* de Ipê-Roxo (*Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos)**. Trabalho de Pesquisa – UFSM, 2005. 6 p.
- SILVA, A. L. L da.; FRANCO, E. T. H.; DORNELLES, E. B.; GESING, J. P. A. **Micropropagação de *Dyckia maritima* Baker – Bromeliaceae**. Porto Alegre, v. 63, p. 135-138, Jan./Jun. 2008.
- SOUZA, F. S. de.; TOZI, T. S de.; MELIS, V. V.; ROSOLEM, C. A. **Resposta do algodoeiro submetido a reguladores de crescimento em função da lavagem por chuva simulada**. UNESP: Botucatu, 2007.
- THOMAZ, D. L.; NEGRELLE, B. R. R. A Cadeia Produtiva da Floricultura no Estado do Espírito Santo. Vitória: **SEBRAE/ES**, 2007. 42 p.
- ZAERR, J. B.; MAPES, M. O. Action of growth regulators. In: Bonga, J.M.; Durzan, D.J. (Eds.). **Tissue culture in forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Pub. p.231-255, 1985.