

MICROPROPAGAÇÃO DE CANDEIA, UMA ESPÉCIE NATIVA DO CERRADO BRASILEIRO

Débora de Oliveira Prudente*; Fernanda Carlota Nery²; Renato Paiva³; Vívian Loryane Ávila Goulart⁴; Aline Cristini do Nascimento Anselmo⁴

SAP 12893 Data envio: 24/09/2015 Data do aceite: 24/11/2015
Sci. Agrar. Parana., Marechal Cândido Rondon, v. 15, n. 3, jul./set., p. 305-311, 2016

RESUMO - Candéia (*Eremanthus erythropappus*) é uma espécie nativa do Cerrado que apresenta potencial econômico para a indústria madeireira e farmacêutica. Entretanto, a taxa de germinação *ex vitro* das sementes é considerada baixa. Neste contexto, objetivou-se estabelecer um protocolo para germinação e multiplicação *in vitro*, visando a rápida multiplicação da espécie. Para a germinação *in vitro* foram testados os meios de cultura WPM; ½ WPM; ¼ WPM; MS; ½ MS e ¼ MS. Além disso, também foram testadas concentrações de GA₃ (0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 mg L⁻¹) e níveis de pH (4,8, 5,8 e 6,8) no meio de cultura ¼ WPM. Para a multiplicação *in vitro*, segmentos caulinares foram inoculados em meio de cultura ¼ WPM, suplementado com BAP (0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mg L⁻¹). Brotações obtidas *in vitro* foram individualizadas e inoculadas em meio de cultura ¼ WPM, suplementado com AIB (0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mg L⁻¹) e 1,5 g L⁻¹ de carvão ativado para o enraizamento *in vitro*. As brotações foram transferidas para tubetes contendo Plantmax[®] para posterior aclimatização. Conclui-se que o meio de cultura mais eficiente para a germinação *in vitro* de candéia é o ¼ WPM suplementado com 0,56 mg L⁻¹ de GA₃, e nível de pH 4,8. Para a multiplicação deve ser utilizado o meio ¼ WPM suplementado com 2,8 mg L⁻¹ de BAP e 3,1 mg L⁻¹ de AIB. As plantas apresentaram 70% de aclimatização *ex vitro*.

Palavras-chave: Cerrado, cultura de tecidos, *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish, espécie florestal.

MICROPROPAGATION OF CANDEIA, NATIVE SPECIES FROM BRAZILIAN CERRADO

ABSTRACT - Candéia (*Eremanthus erythropappus*) is a native species from Brazilian Cerrado and presenting economic potential for the timber and pharmaceutical industry. However, the *ex vitro* germination rate of the seeds is considered low. In this context, the objective was to establish a protocol for *in vitro* germination and multiplication, aiming at the rapid multiplication of the species. For the *in vitro* germination medium were tested WPM; ½ WPM; ¼ WPM; MS; MS ½ and ¼ MS. In addition, Were Also tested GA₃ (0.0; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8 mg L⁻¹) and pH levels (4.8, 5.8 and 6.8) in ¼ WPM culture medium. For *in vitro* multiplication, stem segments were inoculated in ¼ WPM supplemented with BAP (0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 and 5.0 mg L⁻¹). Shoots obtained *in vitro* were individually and inoculated in WPM ¼ culture, supplemented with IBA (0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg L⁻¹) and 1.5 g L⁻¹ of activated carbon for the *in vitro* rooting. The shoots were transferred to plastic tubes containing Plantmax[®] for acclimatization. The more efficient culture medium for *in vitro* germination is ¼ WPM supplemented with 0.56 mg L⁻¹ GA₃ and pH 4.8. For multiplication must be used ¼ WPM medium supplemented with 2.8 mg L⁻¹ BAP and 3.1 mg L⁻¹ IBA. The plants showed 70% of *ex vitro* acclimatization.

Key words: Cerrado, tissue culture, *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish, forest species.

INTRODUÇÃO

O Cerrado é um bioma que apresenta grande diversidade da flora brasileira (RIBEIRO; WALTER, 1998; KLINK; MACHADO, 2005). Contudo, muitas espécies endêmicas têm se perdido nas últimas décadas (VIEIRA; MARTINS, 2000) devido principalmente ao ritmo acelerado da ação antrópica (PEREIRA; GAMA, 2010). Além disso, estudos que contemplam espécies

nativas do Cerrado ainda são incipientes se comparados aos de espécies de outros biomas brasileiros, intensificando a perda de material genético vegetal nativo (COELHO, 1999; LIMA et al., 2014).

Dentre as plantas nativas do Cerrado brasileiro com grande potencial econômico a ser explorado está a candéia. Sendo, o seu óleo, um dos principais produtos de interesse, que pode ser extraído de toda a planta, o qual

¹Bióloga, Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Av. Doutor Sylvio Menicucci 1001, Kennedy, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: deboraoprudente@outlook.com. *Autor para correspondência

²Dra., Professora da UFLA. E-mail: fernanda.nery@dbi.ufla.br

³PhD, Professor da UFLA. E-mail: renpaiva@dbi.ufla.br

⁴Bióloga, Universidade Federal de São João Del Rei, UFSJ, Praça Frei Orlando 170, Centro, CEP 36307-352, São João Del Rei, Minas Gerais, Brasil. E-mail: viviavilagoulart@gmail.com; aline_costabq@yahoo.com.br

possui propriedades antiflogísticas, antibacterianas, antimicóticas, dermatológicas e espasmódicas (SCOLFORO et al., 2004). Além deste, a madeira apresenta alta durabilidade natural e é amplamente utilizada como mourões para cercas e outras construções (PÉREZ et al., 2004).

Pertencente à família Asteraceae, está no grupo ecológico das pioneiras, pois é uma das poucas espécies que ocorre naturalmente em solos arenosos ou pedregosos, apresentando baixa exigência edáfica (ARAÚJO et al., 2012). No entanto, pesquisas já evidenciaram baixa porcentagem de germinação *ex vitro* de candeia, atingindo de 6% (CHAVES; RAMALHO, 1996) a 47,75% (TONETTI et al., 2006). Diante disso, técnicas de propagação assexuada representam importante ferramenta na superação de obstáculos naturais inerentes às espécies vegetais, visando a manutenção de genótipos superiores, viabilizando o cultivo comercial em menos tempo e produzindo plantas livres de doenças (MACHADO et al., 2004). Entretanto, o cultivo *in vitro* de espécies nativas ainda apresenta grandes desafios, principalmente relacionados à adequação dos meios de cultura, fatores físicos e reguladores de crescimento. Dessa forma, objetivou-se, estabelecer um protocolo para germinação e multiplicação *in vitro* de candeia, visando a rápida multiplicação da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As inflorescências da candeia foram coletadas na região de Capitólio, Minas Gerais. Em seguida, foram submetidas à separação por soprador tipo SeedBlower, regulado na abertura 6.0 e tempo de ventilação de 30 segundos (TONETTI et al., 2006). Após a seleção, procedeu-se a desinfestação das mesmas em câmara de fluxo laminar, mediante imersão em álcool 70% por 30 segundos e em hipoclorito de sódio (NaOH 1%) por 15 min. Posteriormente, o material vegetal foi submetido à triplo enxágue em água destilada autoclavada.

Germinação *in vitro*

Foram testados os meios de cultura WPM (LLOYD; MCCOWN, 1981); ½ WPM; ¼ WPM; MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962); ½ MS e ¼ MS, acrescidos com 30 g L⁻¹ de sacarose e gelificados com 7,0 g L⁻¹ de ágar (Sigma®). Foram testados também cinco concentrações de GA₃ (0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 mg L⁻¹) e três níveis de pH (4,8, 5,8 e 6,8) em meio de cultura ¼ WPM (com base nos experimentos anteriores), acrescido com 30 g L⁻¹ de sacarose, gelificado com 7,0 g L⁻¹ de ágar (Sigma®) e autoclavados a 121 °C, durante 20 min. Após inoculadas as sementes, estas foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de 36 μmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 16 h e temperatura de 25 °C ± 2 °C. Cada unidade experimental foi composta por dez tubos de ensaio contendo uma semente, com três repetições. Aos 30 dias de cultivo *in vitro* foi avaliada a porcentagem das sementes germinadas (protrusão radicular a ± 2,0 mm) em cada tratamento.

Multiplicação *in vitro*

Plantas oriundas da germinação *in vitro* com 90 dias de idade foram utilizadas como fonte de explantes para este experimento. Segmentos caulinares com aproximadamente 5 cm foram inoculados em meio de cultura ¼ WPM, suplementado com diferentes concentrações de BAP (0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mg L⁻¹), 30 g L⁻¹ de sacarose e gelificados com 7,0 g L⁻¹ de ágar (Sigma®). O pH do meio foi ajustado para 4,8 antes da autoclavagem a 121 °C, durante 20 min. Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de 36 μmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 16 h e temperatura de 25 °C ± 2 °C. Cada unidade experimental foi composta por dez tubos de ensaio contendo um segmento caulinar, com três repetições. Aos 60 dias de cultivo *in vitro* foi avaliado o número de brotos, número médio de folhas por explante e o comprimento médio da maior brotação.

Efeito do AIB no enraizamento *in vitro* de brotações

Brotações obtidas *in vitro* foram individualizadas e inoculadas em meio de cultura ¼ WPM, contendo diferentes concentrações de AIB (0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mg L⁻¹), 1,5 g L⁻¹ de carvão ativado, 30 g L⁻¹ de sacarose e gelificados com 7,0 g L⁻¹ de ágar. O pH do meio foi ajustado para 4,8 antes da autoclavagem a 121 °C, durante 20 min. Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de 36 μmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 16 h e temperatura de 25 °C ± 2 °C. Cada unidade experimental foi composta por dez tubos de ensaio contendo uma brotação, com três repetições. Aos 60 dias de cultivo *in vitro* foi avaliada a porcentagem de enraizamento.

Aclimatização

Plantas oriundas do melhor tratamento testado para multiplicação e enraizamento *in vitro*, com 60 dias de idade, foram transferidas para tubetes com volume de 250 mL, contendo substrato Plantmax® e envoltas com saco plástico transparente para manutenção da umidade relativa no ambiente, durante 15 dias em sala de crescimento, mantidas à temperatura 25 °C ± 2 °C expostas ao fotoperíodo de 16 h de luz com irradiância de 36 μmol m⁻² s⁻¹ provida por lâmpadas fluorescentes (20W, Osram, Brasil). Após esse período de pré-aclimatização, foi realizada a abertura do recipiente de cultivo. Aos 30 dias, a avaliação de sobrevivência das plantas *ex vitro* foi realizada.

Análises estatísticas

Para os fatores qualitativos foi utilizado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Já para os fatores quantitativos foi empregada a análise de regressão polinomial de segundo grau, para avaliar o efeito das concentrações de GA₃, BAP e AIB. A análise estatística foi realizada com o software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Germinação *in vitro*

O meio ¼ WPM apresentou resultados superiores para germinação (70%) quando comparado com os demais meios de cultura utilizados (Figura 1).

Nos estudos realizados por Nogueira et al. (2007), com murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.), e por Rosal (2004) com candeia, os melhores resultados para a germinação *in vitro*, 60% e 93,75%, respectivamente,

foram obtidos utilizando o meio de cultura WPM, em função deste meio apresentar composição diluída, com 25% das concentrações de NO_3^- e NH_4^+ utilizadas no meio MS (NUNES et al., 2008; VILLA et al., 2004), o que garante melhor desempenho de espécies lenhosas.

Contudo, neste estudo a germinação *in vitro* das sementes de candeia pôde ser incrementada por meio da utilização de $0,56 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 em meio de cultura ¼ WPM, garantindo 87% de germinação (Figura 2).

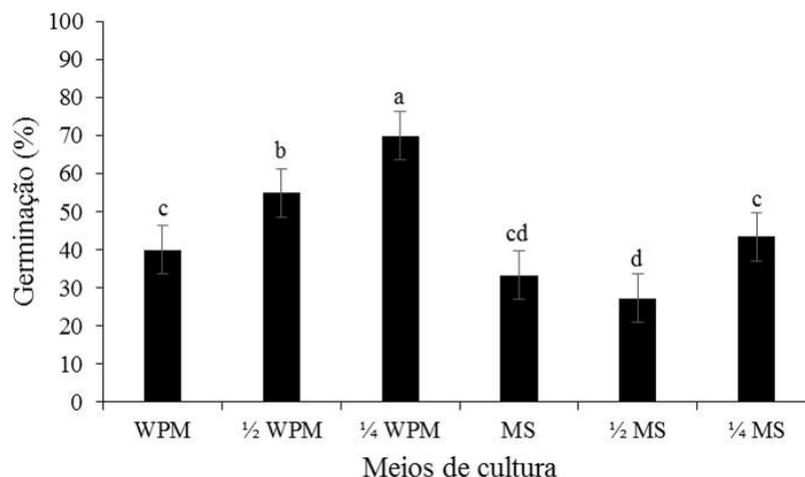


FIGURA 1 - Porcentagem de germinação de sementes de candeia em diferentes meios de cultura aos 30 dias de cultivo *in vitro*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

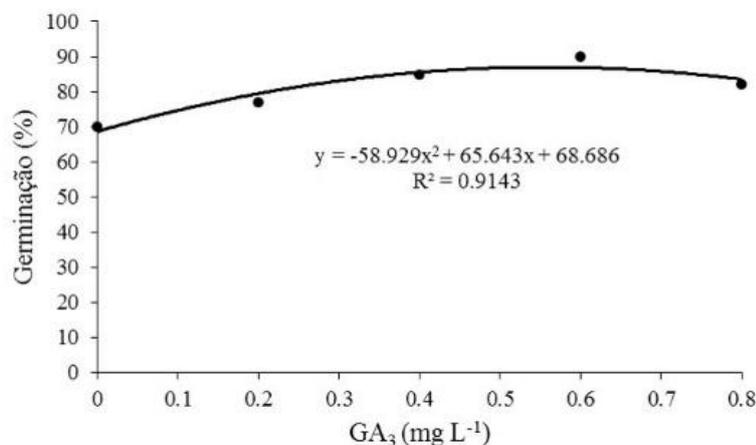


FIGURA 2 - Porcentagem de germinação de sementes de candeia inoculadas em meio de cultura ¼ WPM em função das concentrações de GA_3 aos 30 dias de cultivo *in vitro*.

Resultados semelhantes foram encontrados para *Hancornia speciosa* Gomes, espécie nativa do Cerrado, em meio de cultura WPM suplementado com $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 , constatando maior porcentagem de sementes germinadas *in vitro* (80%) (SOARES et al., 2007). A concentração de GA_3 adicionada ao meio de cultura, pode resultar em efeito significativo na germinação *in vitro*, dependendo diretamente da concentração endógena de GA_3 presente nas sementes (VÁLIO, 1976; PRUDENTE et al., 2015). Por outro lado, para algumas espécies, a

adição de GA_3 ao meio de cultura pode proporcionar um atraso na protrusão radicular, pois poderá ocorrer inibição das enzimas hidrolíticas induzidas pelo acúmulo de GA_3 endógeno (SANTOS et al., 2013).

Diferença significativa também foi observada para os diferentes níveis de pH testados em meio de cultura ¼ WPM para a germinação de sementes de candeia. O pH 4,8 proporcionou germinação superior a 73,3%, sendo mais eficiente quando comparado aos níveis 5,8 (58,3%) e 6,8 (51,6%) (Figura 3).

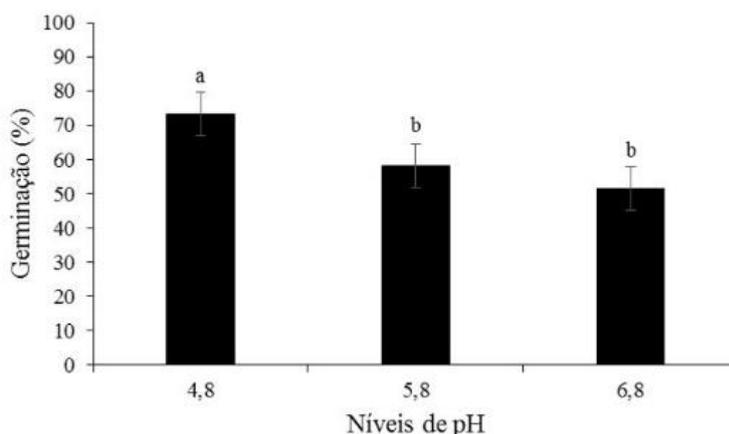


FIGURA 3 - Porcentagem de germinação de sementes de candeia inoculadas em meio de cultura $\frac{1}{4}$ WPM, com diferentes níveis de pH, aos 30 dias de cultivo *in vitro*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Esses resultados comprovam que o pH é um fator crítico do meio de cultura que pode influenciar na disponibilidade de nutrientes, paralisando o crescimento e desenvolvimento *in vitro* (SOARES et al., 2009). No caso da candeia, verifica-se baixa habilidade para germinar em ambientes básicos. Já para a falsa serralha, *Emilia sonchifolia* (Asteraceae), o pH 6,0 promoveu maior percentual de germinação (86%), o que indica que cada espécie possui uma tolerância diferente ao nível de pH (YAMASHITA et al., 2009).

Multiplicação *in vitro*

Estimou-se que a máxima multiplicação de brotos foi alcançada com a concentração de $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, com média de, aproximadamente, 2,3 brotos por explante. Esta concentração também foi adequada para garantir as maiores médias de comprimento das brotações (8,4 cm), no entanto, a concentração de $3,10 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP garantiu 10,4 folhas por brotação (Figuras 4A, 4B e 4C).

Dentre os fatores que interferem diretamente no processo de multiplicação *in vitro*, estão os reguladores de crescimento, em especial as citocininas, como a BAP (LEONTIEV-ORLOV et al., 2000), sendo comumente utilizada para quebra da dormência apical de brotos e aumento da taxa de multiplicação, pois atua a nível celular, induzindo a expressão de alguns genes relacionados ao crescimento e promoção de mitose (VILLA et al., 2005; RIEFLER et al., 2006; YEW et al., 2010). Corroborando com os resultados obtidos neste estudo, no qual a utilização da BAP isoladamente no meio de cultura obteve efeitos benéficos na multiplicação de candeia, muitos trabalhos comprovam a eficácia da citocinina BAP na multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias em diversas espécies, tanto lenhosas, como arbóreas (HU; WANG, 1983; VILLA et al., 2004).

Entrenós de *Malus sylvestris* Mill. (macieira), inoculados em meio de cultura MS suplementado com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, obtiveram as maiores taxas de regeneração (SCHUCH et al., 2012). Para a regeneração e crescimento de brotos de *Ananas comosus* (L.) (abacaxi), $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP no meio de cultura MS promoveu as melhores respostas *in vitro* (ADEL; ROSNA, 2011).

Efeito do AIB no enraizamento *in vitro* de brotações

O AIB garantiu maior porcentagem de formação de raízes (64,6%) com a concentração de $3,1 \text{ mg L}^{-1}$, evidenciando que a presença de auxinas promove o desenvolvimento radicular de candeia (Figura 5).

Dentre as auxinas mais indicadas para o enraizamento *in vitro* estão AIA, ANA e o AIB (ZIMMERMANN, 1981; LOPES et al., 2001). Entre elas, o AIB possui expressiva funcionalidade *in vitro* por não causar fitotoxicidade aos explantes em uma larga faixa de concentração e ser eficiente em uma grande variedade de espécies (HARTMANN et al., 1997; LOPES et al., 2001), sendo efetivo na expansão e no alongamento celular, auxiliando também na divisão celular em cultura de tecidos, principalmente no enraizamento, permitindo a constituição de plantas completas, para posterior aclimação às condições *ex vitro* (KRIKORIAN, 1991; BANDEIRA et al., 2012).

Aclimação

As plantas oriundas do melhor tratamento para multiplicação e enraizamento *in vitro*, apresentaram uma média de 70% de sobrevivência após a aclimação *ex vitro*. O aspecto visual das plantas aclimatizadas está ilustrado na Figura 6.

Na fase de aclimação, geralmente, apenas a fotossíntese está atuando como fornecedora de energia à planta vinda do cultivo *in vitro*. Portanto, a formação de raízes adventícias *in vitro* é importante para a etapa de aclimação, pois, plantas completas não necessitariam ter maior gasto energético com a síntese de novas raízes após serem transplantadas para o ambiente *ex vitro* (CHANDRA et al., 2010). Como as brotações obtiveram uma taxa de enraizamento *in vitro* considerada elevada, durante a aclimação *ex vitro*, isso pode ter ajudado a minimizar os danos causados pela transição das condições *in vitro* para *ex vitro*, atuando na indução da competência do aparato fotossintético como um estímulo para a transição de heterotrofismo para o autotrofismo.

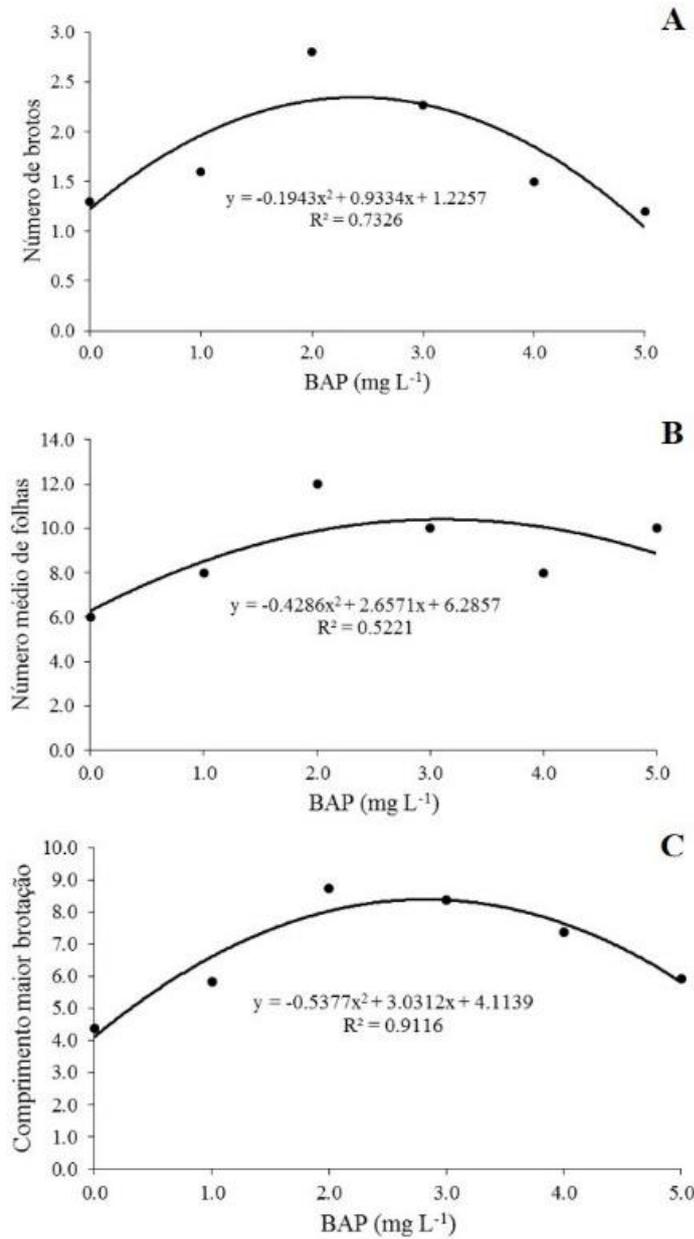


FIGURA 4 - Número de brotos (A), número médio de folhas (B) e comprimento médio da maior brotação (C) de cadeia, em função de diferentes concentrações de BAP aos 30 dias de cultivo *in vitro*.

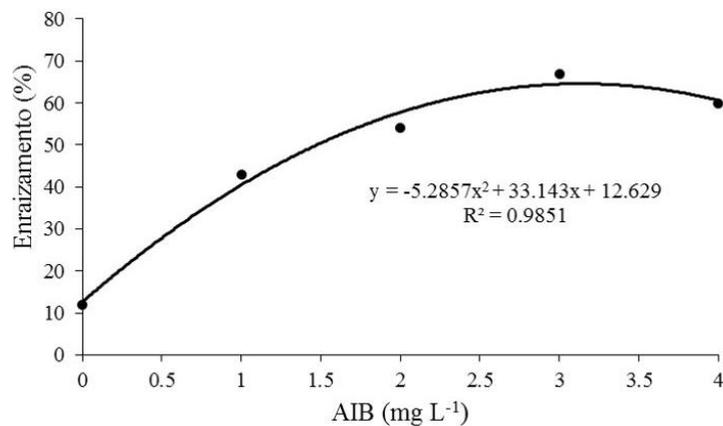


FIGURA 5 - Porcentagem de enraizamento de brotações de cadeia em função de diferentes concentrações de AIB aos 30 dias de cultivo *in vitro*.

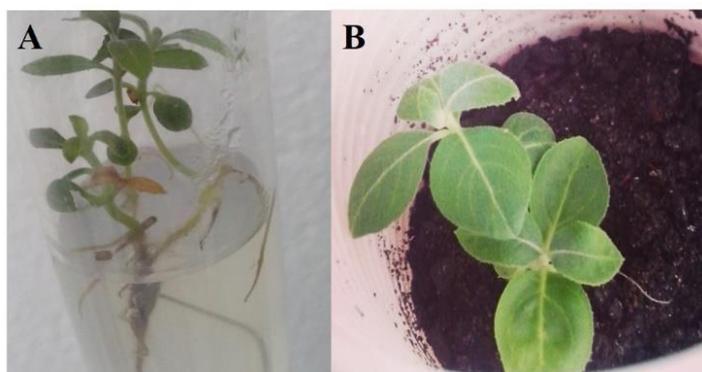


FIGURA 6 - Brotações de candeia inoculadas em meio de cultura $\frac{1}{4}$ WPM suplementado com $3,2 \text{ mg L}^{-1}$ de AIB, evidenciando o sistema radicular bem desenvolvido aos 30 dias de cultivo *in vitro* (A). Brotação de candeia aclimatizada em substrato Plantmax[®] aos 60 dias de cultivo *ex vitro* (B).

CONCLUSÕES

Recomenda-se a utilização do meio de cultura $\frac{1}{4}$ WPM suplementado com $0,56 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 , e pH 4,8 para a germinação e o meio de cultura $\frac{1}{4}$ WPM suplementado com $2,8 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e $3,1 \text{ mg L}^{-1}$ de AIB para multiplicação e enraizamento *in vitro* de candeia, respectivamente.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro para a execução do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANDEIRA, J.D.M.; THUROW, L.B.; BRAGA, E.J.B.; PETERS, J.A.; BIANCHI, V.J. Rooting and acclimatization of the Japanese plum tree, cv. América. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.34, n.2, p.597-603, 2012.
- CHANDRA, S.; BANDOPADHYAY, R.; KUMAR, V.; CHANDRA, R. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. *Biotechnology Letters*, s.l, v.32, n.9, p.1199-1205, 2010.
- CHAVES, M.M.F.; RAMALHO, R.S. Estudos morfológicos em sementes, plântulas e mudas de duas espécies arbóreas pioneiras da família Asteraceae (*Vanillosmopsis erythropappa* Schult. Bip. e *Vernonia discolor* Spreng-Less). *Revista Árvore*, Viçosa, v.20, n.1, p.431-433, 1996.
- COELHO, M.C.F. **Germinação de sementes e propagação *in vitro* de sucupira branca [*Pterodon pubescens* (Benth)]**. 1999. 119p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics, 1984. 709p.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E. **Plant propagation: principles and practices**. 6.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770p.
- HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Eds.). **Handbook of plant cell culture: techniques for propagation and breeding**. New York: Macmillan, 1983. p.117-227.
- HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Eds.). **Handbook of plant cell cultures**. New York: Macmillan, 1983. v.1, p.177-227.
- KLINK, C.A.; MACHADO, R.B. Conservation of the Brazilian cerrado. *Conservation Biology*, Malden, v.19, n.3, p.707-713, 2005.
- KRIKORIAN, A.D. Hormones in tissue culture and micropropagation. In: **Plant hormones**. Springer Netherlands, 1995. 22p.
- LEONTIEV-ORLOV, O.; ROGALSKI, M.; MOSSI, A.J.; CANSIAN, R.L. 6-Benzilaminopurina (BAP) na multiplicação *in vitro* de prunáceas (*Prunus* sp.). *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v.6, n.1, p.63-67, 2000.
- LIMA, M.R.; SANTOS, P.D.A.; SILVEIRA, C.E.S.; PALHARES, D.; PEREIRA, L.A.R. *In vitro* cultivation of *Brosimum gaudichaudii* Tréc. (Moraceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Paulínia, v.16, n.2, p.462-466, 2014.
- LLOYD, G.; MC COWN, B. Commercially-feasible micropropagation of *Mountain laurel*, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v.30, p.421-427, 1980.
- LOPES, S.C.; LAMEIRA, O.A.; FORTES, G.R.L.; CRAVO, R.; NOGUEIRA, J.E.B.P.P. Enraizamento *in vitro* de mogno (*Swietenia macrophylla* King). *Cerne*, Lavras, v.7, n.1, p.124-128, 2001.
- MACHADO, L.; RAMOS, M.L.G.; CALDAS, L.S.; VIVALDI, L.J. Seleção de matrizes e clones de mangabeira para o cultivo *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.5, p.431-435, mai. 2004.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, mar. 1962.
- NOGUEIRA, R.C.; PAIVA, R.; OLIVEIRA, L.D.; SOARES, G.D.A.; SOARES, F.P.; CASTRO, A.H.F.; PAIVA, P.D.O. Indução de calos em explantes foliares de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.31, n.2, p.366-370, 2007.
- NUNES, C.F.; PASQUAL, M.; SANTOS, D.D.; CUSTÓDIO, T.N.; ARAÚJO, A.D. Diferentes suplementos no cultivo *in vitro* de embriões de pinhão-manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.1, p.9-14, 2008.
- PEREIRA, A.C.; GAMA, V.F. Anthropization on the Cerrado biome in the Brazilian Urucuí-Una Ecological Station estimated from orbital images. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v.70, n.4, p.969-976, 2010.
- PÉREZ, J.F.M.; SCOLFORO, J.R.S.; OLIVEIRA, A.D.; MELLO, J.M.; BORGES, L.F.R.; CAMOLESI, J.F. Sistema de manejo para a candeia *Eremanthus erythropappus* (DC.) Macleish, a opção do sistema de corte seletivo. *Cerne*, Lavras, v.10, n.2, p.257-273, 2004.
- PRUDENTE, D.O.; NERY, F.C.; PAIVA, R.; SANTOS, P.A.A.; NERY, M.C.; PAIVA, P.D.O. *In vitro* germination and cryopreservation of *Zinnia elegans* seeds. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Lavras, v.21, n.2, p.243-250, 2015.
- RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T. Fitofisionomias do bioma cerrado. In **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 166p.
- RIEFLER M.; NOVAK, O.; STRNAD, M.; SCHMÜLLING, T. *Arabidopsis cytokinins* receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism. *Plant Cell*, Los Angeles, v.18, n.1, p.40-54, 2006.
- ROSAL, L.F. **Germinação, indução de calos, micropropagação e anatomia foliar da candeia (*Eremanthus erythropappus* Mac Leish)**. 2004. 106p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, 2004.

Micropropagação de candeia...

PRUDENTE, D. O. et al. (2016)

- SANTOS, C.A.C.; VIEIRA, E.L.; PEIXOTO, C.P.; DA SILVA LEDO, C.A. Seed germination and seedling vigor of passion fruit submitted to the action of gibberellic acid. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.29, n.2, p.400-407, 2013.
- SCHUCH, M.; SILVA, K.; AFONSO, A.P.; SOUZA, J.; SOARES, A.; SCHIRMBECK, E. Explante, citocinina e luz: fatores que afetam a organogênese de porta enxerto de macieira cultivar m-9. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v.1, v.11, n.1, p.365-367, 2012.
- SCOLFORO, J.R.S.; PÉREZ, J.F.M.; MELLO, J.D.; OLIVEIRA, A.D.; CAMOLESI, J.F.; BORGES, L.F.R.; ACERBI JÚNIOR, F.W. Estimativas de volume, peso seco, peso de óleo e quantidade de moirões para a candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish). **Cerne**, Lavras, v.10, n.1, p.87-102, 2004.
- SOARES, F.P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A.A.D.; NOGUEIRA, R.C.; EMRICH, E.B.; MARTINOTTO, C. Organogênese direta em explantes caulinares de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.4, p.1048-1053, 2007.
- SOARES, F.P.; PAIVA, R.; STEIN, V.C.; NERY, F.C.; NOGUEIRA, R.C.; OLIVEIRA, L.M. Efeito de meios de cultura, concentrações de GA₃ e pH sobre a germinação *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n. especial, p.1847-1852, 2009.
- TONETTI, O.A.O.; DAVIDE, A.C.; SILVA, E.A.A. Qualidade física e fisiológica de sementes de *Eremanthus erythropappus* (DC.) Mac. Leish. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.28, n.1, p.114-121, 2006.
- VALIO, I.F.M. Germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L.) cv. Mundo Novo. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.27, n.5, p.983-991, 1976.
- VIEIRA, R.F.; MARTINS, M.V.M. Genetic resources of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v.3, n.1, p.13-36, 2000.
- VILLA, F.; ARAÚJO, A.D.; PIO, L.A.S., PASQUAL, M. Multiplicação *in vitro* da amoreira-preta 'Ébano' em diferentes concentrações de meio MS e BAP. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.29, n.1, p.582-589, 2005.
- VILLA, F.; FRÁGUAS, C.B.; DUTRA, L.F.; PIO, L.S.; PASQUAL, M. Multiplicação *in vitro* de amoreira-preta cultivar Brazos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.2, p.266-270, 2004.
- YAMASHITA, O.M.; GUIMARÃES, S.C.; SILVA, J.L.; CARVALHO, M.A.C.; CAMARGO, M.F. Fatores ambientais sobre a germinação de *Emilia sonchifolia*. **Planta Daninha**, Viçosa, v.27, n.4, p.673-681, 2009.
- YEW, C.K.; BHAVANI, B.; JEEVANDRAN. S.; SREERAMANAN. S. The effect of cytokinins on *in vitro* shoot length and multiplication of *Hymenocallis littoralis*. **African Journal of Biotechnology**, s.l., v.9, n.1, p.7446-7452, 2010.
- ZIMMERMANN, R.H.; BROOME, O.C. Phoroglucinol and *in vitro* rooting of the apple cultivar cuttings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.106, n.5, p.648-652, 1981.