



Ciência Rural

ISSN: 0103-8478

cienciarural@mail.ufsm.br

Universidade Federal de Santa Maria

Brasil

Jesus Sá, Aline de; Silva Lédo, Ana da; Silva Lédo, Carlos Alberto da
Conservação in vitro de mangabeira da região nordeste do Brasil

Ciência Rural, vol. 41, núm. 1, enero, 2011, pp. 57-62

Universidade Federal de Santa Maria

Santa Maria, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33118933010>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe , Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Conservação *in vitro* de mangabeira da região nordeste do Brasil

In vitro conservation of mangaba tree in Northeast Brazil

Aline de Jesus Sá^I Ana da Silva Lédo^{II} Carlos Alberto da Silva Lédo^{III}

RESUMO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma espécie cujas regiões de ocorrência natural vêm sofrendo grande pressão antrópica, a qual está provocando erosão genética em muitas populações nativas, principalmente da região Nordeste. Em virtude da existência de poucas coleções de mangabeira conservadas ex situ, evidencia-se a importância do desenvolvimento de um método alternativo e complementar para a conservação de germoplasma dessa espécie. A utilização de técnicas de cultura de tecidos de plantas para a conservação de recursos genéticos apresenta diversas vantagens sobre a conservação de germoplasma no campo, destacando-se a economia de recursos financeiros para a manutenção das coleções, redução de riscos fitossanitários e intempéries climáticas. Por esse motivo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de regulador osmótico (manitol) e inibidor de crescimento (ácido abscísico) na conservação *in vitro* de microestacas de mangabeira por crescimento lento. As culturas foram mantidas em meio MS com 3% de sacarose e 0,6% de agar. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, em sala de crescimento com temperatura variando de 26±2°C, umidade relativa do ar média em torno de 70% e fotoperíodo de 12 horas de luz branca fria (52μmol m⁻² s⁻¹ de irradiação). Foram avaliadas cinco concentrações de manitol (0, 10, 15 e 20g L⁻¹). Na presença de manitol, o comprimento da parte aérea apresentou valores numéricos inferiores à testemunha, mas, aos 90 dias de cultivo *in vitro*, foi observado efeito deletério do manitol nas microestacas. Em relação ao ácido abscísico, foram testadas cinco concentrações (0; 0,5; 1; 2 e 4mg L⁻¹) em interação com dois tipos de vedação de frascos (tampa plástica rosqueada e papel alumínio) e dois tipos de explantes (microestacas apicais e basais). O ácido abscísico (0,5mg L⁻¹) apresentou melhores resultados para a conservação *in vitro* de

microestacas de plântulas de mangabeira cultivadas em frascos vedados com papel alumínio. Não houve efeito significativo do tipo de explante.

Palavras-chave: *Apocynaceae*, crescimento lento, manitol, ácido abscísico.

ABSTRACT

The mangaba tree (*Hancornia speciosa* Gomes) is a species whose natural occurrence has suffered great human pressure, which is causing genetic erosion in many populations, especially in the Northeast Brazil. Due to the existence of few collections of mangaba tree preserved *ex situ*, it's important to develop a complementary and alternative method to germplasm conservation of this species. The use of techniques of plant tissue culture for conservation of plant genetic resources presents several advantages over germplasm conservation in the field, especially when focusing cost reduction for the maintenance of collections, sanitary risk and weather problems. The present research aimed to evaluate the effectiveness of regulators osmotic mannitol and the growth inhibitor abscisic acid on the *in vitro* conservation of mangaba microcutting under slow growth. The cultures were maintained in MS medium with 3% sucrose and 0.6% of agar. The experiments were conducted in a randomized blocks design in a growth room with temperature ranging from 26±2°C, average relative humidity around 70% and photoperiod of 12 hours of cold white light (52μmol m⁻² s⁻¹ irradiance). It was evaluated five concentrations of mannitol (0, 10, 15 and 20g L⁻¹). Mannitol in the presence of the length of shoots showed values below the control, but after 90 days of *in vitro* culture was observed deleterious effect of mannitol in microcutting. It was tested five concentrations of abscisic acid (0; 0,5; 1; 2 and 4mg L⁻¹) in interaction with two types of sealing bottles (plastic

^INúcleo de Estudos em Recursos Naturais, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, Brasil.

^{II}Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira Mar, 3250, Praia 13 de Julho, CP 44, 49025-040, Aracaju, SE, Brasil. E-mail: analedo@cpatc.embrapa.br. Autor para correspondência.

^{III}Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, BA, Brasil.

cover and threaded aluminum foil) and two types of explants (apical and basal microcutting). Abscisic acid (0.5mg L⁻¹) showed better results for in vitro conservation of seedling of mangaba microcutting grown in flasks sealed with aluminum foil. There was no significant effect of explant type.

Key words: *Apocynaceae, slow growth, mannitol, abscisic acid.*

INTRODUÇÃO

Em função da crescente ocupação de áreas de vegetação nativa e da sensível erosão genética observada em muitas espécies de plantas que apresentam potencial de utilização alimentícia ou medicinal, torna-se evidente a necessidade do desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas de conservação de germoplasma dessas espécies, de forma que ele esteja disponível para utilização futura.

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma espécie nativa encontrada em várias regiões do país e apresenta o maior potencial de uso imediato entre as fruteiras nativas da região Nordeste (FERREIRA et al., 2005). Percebe-se que nessa região está ocorrendo erosão genética em muitas populações nativas da espécie, em consequência da exploração agrícola ou ocupação imobiliária de áreas remanescentes de mangabeira, ressaltando-se a necessidade de métodos de conservação eficientes que possam minimizar os riscos de extinção dessa espécie.

A conservação de germoplasma de mangabeira em campo já é realizada por órgãos de pesquisa em alguns estados nordestinos, mas a vulnerabilidade que os acessos apresentam nesse tipo de conservação é alta, o que ressalta a necessidade do desenvolvimento de técnicas complementares de conservação. Como a formação de bancos de sementes dessecadas de mangabeira mantidas em condições de baixa temperatura é inviável devido à recalcitrância das sementes, a conservação *in vitro* pode ser considerada potencial.

A aplicação de técnicas biotecnológicas de cultura de tecidos tem permitido que coleções de germoplasma de várias espécies de plantas, como a oliveira (*Olea europaea* L.) e a bananeira (*Musa* sp.) (LAMBARDI et al., 2000; INIBAP, 2006), sejam formadas e conservadas por longos períodos, possibilitando assim que o material vegetal de interesse se torne disponível para recuperação e possível utilização futura. Uma das maneiras de conservar material vegetal é através da técnica de crescimento lento, através da qual o metabolismo das plantas pode ser reduzido pela modificação nas condições químicas do meio de cultivo.

Trabalhos de conservação *in vitro* por crescimento lento têm sido desenvolvidos e têm mostrado viabilidade para diferentes espécies de importância econômica, como cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) (LEMOS et al., 2002), abacaxi (*Ananas comosus*) (CANTO et al., 2004), maracujazeiro (*Passiflora giberti* N. E. Brown.) (FARIA et al., 2006), coco (*Cocos nucifera* L.) (LÉDO et al., 2007) e açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) (OLIVEIRA et al., 2001). Apesar dos resultados promissores, não existe um protocolo padrão de conservação que possa ser aplicado para todas as espécies, pois as respostas podem variar em função da espécie, cultivar, tipo de explante dentre outros fatores.

O estabelecimento de protocolos de conservação *in vitro* para a mangabeira nativa da região Nordeste é necessário, como forma alternativa e complementar à conservação de germoplasma de mangabeira em campo. Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do manitol, do ácido abscísico, tipo de microestaca e fatores físicos (frasco e vedação) no crescimento de microestacas de mangabeira, visando ao estabelecimento de um protocolo de conservação por crescimento lento.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo da conservação *in vitro* da mangabeira, variedade botânica do Nordeste, foram utilizados como explantes plântulas germinadas *in vitro*, sendo que as sementes usadas para germinação foram coletadas de frutos maduros de acessos da população nativa de mangabeiras do Campo Experimental da Embrapa Tabuleiros Costeiros, em Itaporanga d'Ajuda, SE.

A assepsia e inoculação das sementes foram realizadas no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Tabuleiros Costeiros. Após a inoculação, em meio de cultura MS gelificado com 0,6% de agar e suplementado com 0,3% de sacarose, as culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura variando de 26±2°C, umidade relativa do ar média em torno de 70% e fotoperíodo de 12 horas, fornecido por luz branca fria e densidade de fluxo de fôtons de 52µmol m⁻² s⁻¹ de irradiação.

Experimento I- Efeito do manitol na conservação *in vitro* de microestacas de mangabeira

Para avaliar o efeito do manitol na conservação *in vitro* de microestacas de mangabeira, foram utilizadas microestacas de aproximadamente 7cm de comprimento, provenientes de plântulas de mangabeira germinadas *in vitro* com 50 dias de cultivo.

As microestacas foram inoculadas em frascos de vidro tipo maionese com capacidade para 250mL, contendo 30mL do meio de cultura MS gelificado com 0,6% de ágar e com 3% de sacarose, suplementado com 1mg L⁻¹ de AIA e 1mg L⁻¹ de BAP, variando as concentrações de manitol: 0; 10; 15 e 20g L⁻¹.

O experimento foi instalado em parcelas subdivididas no tempo, sendo a parcela constituída de quatro tratamentos (quatro concentrações de manitol) e a subparcela de três tempos, com cinco repetições. A unidade experimental foi constituída de quatro frascos com uma microestaca cada. As avaliações foram realizadas aos 30, 60 e 90 dias da inoculação, observando-se o comprimento da microestaca (cm) e número de folhas que sofreram abscisão (abscisão foliar).

Experimento II- Efeito do ácido abscísico, da posição e do tipo de vedação de frascos na conservação *in vitro* de microestacas de mangabeira

Para avaliar o efeito do ácido abscísico, da posição e do tipo de vedação de frascos na conservação *in vitro* de microestacas de mangabeira, plântulas de mangabeira germinadas *in vitro* (com aproximadamente 12cm de comprimento) foram divididas em duas partes (basal e apical) e inoculadas em frascos contendo 30mL do meio de cultura MS gelificado com 0,6% de ágar e suplementado com 3% de sacarose. Foram avaliadas as seguintes concentrações de ácido abscísico: 0; 0,5; 1; 2 e 4mg L⁻¹ e dois tipos de vedações de frasco: tampa plástica e papel alumínio.

O experimento foi instalado em parcelas subdivididas no tempo, sendo na parcela um fatorial 5x2x2 (cinco concentrações de ABA, dois tipos de estacas e dois tipos de vedação de frascos) e na subparcela três tempos de avaliação, com quatro repetições. Cada unidade experimental foi constituída de um frasco contendo uma microestaca. As avaliações dos experimentos foram realizadas aos 30, 60 e 90 dias após a inoculação, observando-se o comprimento da microestaca (cm) e número de folhas que sofreram abscisão (abscisão foliar).

Análises estatísticas

Os modelos matemáticos dos experimentos foram: a) Experimento I: $Y_{ij} = m + M_i + d_j + t_j + (PB^*t)_{ij} + e_{ij}$, onde: Y_{ij} = resposta da observação submetida ao i -ésimo nível de M no tempo j ; m = média geral dos efeitos; M_i = efeito do i -ésimo de *manitol*; t_j = efeito do tempo j ; d_i = erro aleatório associado a parcela principal; $(M^*t)_{ij}$ = efeito da interação do i -ésimo nível de M com o tempo j ; e_{ij} = erro aleatório total e b)

Experimento II: $Y_{ijkl} = m + AB_i + Ej + V_k + Tl + (AB^*E)_{ij} + (AB^*V)_{ik} + (E^*V)_{jk} + (AB^*E^*V)_{ijk} + dijk + (AB^*T)_{il} + (E^*T)_{jl} + (V^*T)_{kl} + (AB^*E^*T)_{ijl} + (AB^*V^*T)_{ikl} + (E^*V^*T)_{jkl} + (AB^*E^*V^*T)_{ijkl} + e_{ijkl}$, em que: Y_{ijkl} = resposta da observação submetida ao i -ésimo nível de AB , j -ésimo nível de E , k -ésimo nível de V no tempo l ; m = média geral dos efeitos; AB_i = efeito do i -ésimo de ácido abscísico; Ej = efeito do j -ésimo nível de tipo de estaca; V_k = efeito do k -ésimo nível de tipo de vedação; Tl = efeito do tempo l ; $(....^*....)_{ij}$ = efeito das interações; e_{ijkl} = erro aleatório total.

Foi realizada a análise de variância considerando o delineamento inteiramente casualizado em parcela subdividida no tempo. Para as médias de manitol e de ABA foram ajustadas equações de regressão polinomial e as médias das posições, das vedações e do tempo de cultivo *in vitro* foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito do manitol na conservação *in vitro* de microestacas de mangabeira

Houve efeito significativo isolado do tempo de cultivo *in vitro* para o comprimento das microestacas, para a abscisão foliar e da interação do tempo de cultivo *in vitro* e manitol para o comprimento das microestacas aos 30, 60 e 90 dias e para abscisão foliar aos 90 dias (Figuras 1A e 1B, Tabela 1). Não houve efeito do tipo da microestaca para todas as características avaliadas.

De acordo com a figura 1, aos 30 dias de cultivo *in vitro*, o comprimento das microestacas variou segundo uma regressão quadrática, sendo menor nas concentrações de 15 e 20g L⁻¹ de manitol. Com a derivada calculada, o valor máximo para o comprimento é de 9,3, correspondente à concentração de 5,96g L⁻¹ de manitol. Aos 60 e 90 dias de cultivo *in vitro*, o comprimento variou segundo uma regressão linear decrescente, ou seja, com menor comprimento em maiores concentrações de manitol. Apesar do resultado positivo na redução do alongamento das microestacas de mangabeira, fator importante para o processo de conservação *in vitro*, a utilização do manitol nas concentrações de 10, 15 e 20g L⁻¹ não se mostrou viável para este propósito, uma vez que aos 90 dias de cultivo *in vitro* foi observado seu efeito deletério nas microestacas de mangabeira. FORTES & PEREIRA (2001) alcançaram apenas 37% de sobrevivência de hastes de batata em três meses de cultivo. Efeitos tóxicos do manitol foram reportados também por

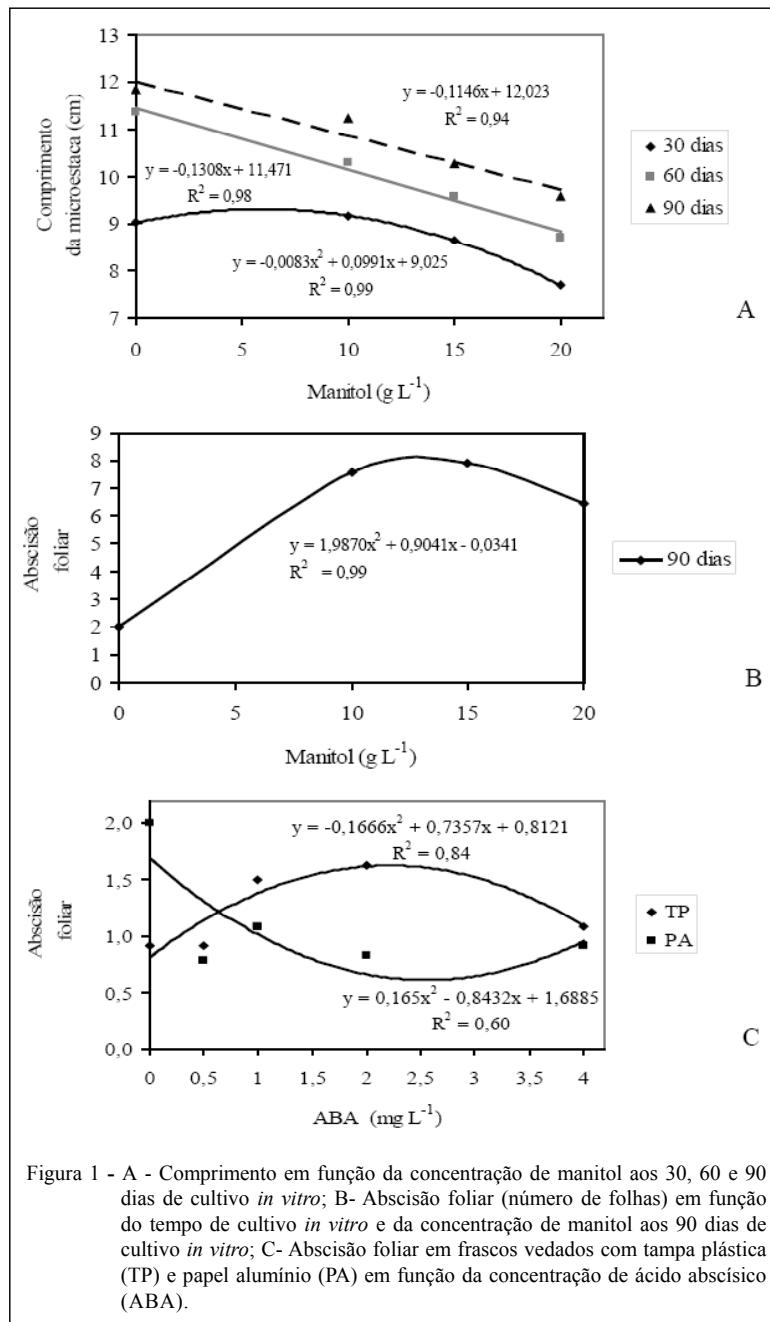


Figura 1 - A - Comprimento em função da concentração de manitol aos 30, 60 e 90 dias de cultivo *in vitro*; B- Abscisão foliar (número de folhas) em função do tempo de cultivo *in vitro* e da concentração de manitol aos 90 dias de cultivo *in vitro*; C- Abscisão foliar em frascos vedados com tampa plástica (TP) e papel alumínio (PA) em função da concentração de ácido abscísico (ABA).

LEMOS et al. (2002) em cana-de-açúcar e por LÉDO et al. (2007) em plântulas de coqueiro anão verde de Jiqui do Brasil.

Observou-se um aumento da abscisão foliar com aumento do tempo de cultivo *in vitro* na presença de manitol, contribuindo sobremaneira para a senescência das microestacas (Tabela 1). O ambiente fechado, ao qual as plântulas ou explantes foram submetidos proporciona, de modo geral, o acúmulo de etileno, regulador de crescimento e responsável pela

abscisão de folhas, frutos e flores. Esse regulador, mesmo em pequenas concentrações, pode ser fisiologicamente ativo e desencadear vários processos, dentre eles, a abscisão foliar (KERBAUY, 2004). Para a abscisão foliar, aos 30 e 60 dias de cultivo, em função da concentração de manitol, não foi possível estabelecer um modelo de regressão. Entretanto, aos 90 dias, variou segundo uma regressão quadrática, sendo menor na concentração 0g L⁻¹ de manitol (Figura 1B). Autores

Tabela 1 - Médias da abscisão foliar, na presença de manitol, e médias de comprimento e abscisão foliar, na presença de ácido abscísico, de microestacas de mangabeira em função do tempo de cultivo *in vitro*.

Microestacas na presença de manitol		
Tempo de cultivo <i>in vitro</i> (dias)		Abscisão foliar (número folhas)
30 dias		1,3250 b
60 dias		2,7400 b
90 dias		5,9775 a
CV (%)		38,56

Microestacas na presença de ácido abscísico		
Tempo de cultivo <i>in vitro</i> (dias)	Comprimento das microestacas (cm)	Abscisão foliar (número folhas)
30 dias	6,9875 b	0,6250 b
60 dias	7,5263 ab	1,0750 b
90 dias	8,1392 a	1,8101 a
CV (%)	35,65	112,44

Médias não seguidas pela mesma letra nas colunas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

têm relatado que algumas substâncias apresentam a capacidade de inibir a ação do etileno *in vitro* e interferirem no processo de abscisão foliar (RADEMACHER, 2000; NEPOMUCENO et al., 2007). Apesar de o manitol ter apresentado efeito deletério nas microestacas, sua presença a partir da concentração de 15g L⁻¹ no meio de cultura reduziu a abscisão foliar que normalmente é observada em culturas *in vitro* de mangabeira, devido ao acúmulo de etileno.

Efeito do ácido abscísico, da posição e do tipo de vedação de frascos na conservação *in vitro* de microestacas de mangabeira

Houve efeito significativo isolado do tempo de cultivo *in vitro* no comprimento das microestacas, na abscisão foliar, na interação da concentração de ácido abscísico e no tipo de vedação de frascos na abscisão foliar. Após 90 dias de cultivo *in vitro*, as microestacas apresentaram maior comprimento e abscisão foliar do que aos 30 dias (Tabela 1). Apesar do efeito isolado das concentrações de ABA sobre o comprimento e abscisão foliar não ter sido significativo, a abscisão foliar aos 90 dias de cultivo *in vitro* na presença de ABA apresentou menores valores numéricos quando comparado com microestacas mantidas na presença de manitol (Tabela 1 e Figura 1C).

Dependendo dos fatores que interferem na atuação do ácido abscísico, esse regulador do crescimento pode estimular ou inibir o crescimento vegetal (LEMOS et al., 2002). Em cana-de-açúcar, concentrações de ABA inferiores ou superiores a 1mg L⁻¹ favorecem o crescimento, porém, na presença 1mg L⁻¹ desse regulador de crescimento, ocorre inibição do crescimento nos explantes, sem redução da sua viabilidade (LEMOS et al., 2002). A presença de ABA (0,01 a 10mg L⁻¹) inibiu a emissão de brotações e o

desenvolvimento de raízes de gemas axilares da *cv. Jewel* de batata-doce (JARRET & GAWEL, 1991).

Apesar de não terem sido detectadas diferenças significativas, em frascos vedados com papel alumínio, observaram-se menores valores numéricos de abscisão foliar na presença de ABA. Em frascos vedados com tampa plástica, na ausência de ABA, obteve-se menor abscisão foliar. A abscisão foliar variou de acordo com uma regressão quadrática, em função das concentrações de ABA com comportamento antagônico entre plantas mantidas em frascos vedados com tampa plástica e papel alumínio (Figura 1C).

O tipo de vedação de frasco interfere na aeração e na incidência de luminosidade para as culturas *in vitro*. Vedações que não são hermeticamente fechadas permitem maiores trocas gasosas entre o ar atmosférico e o ambiente do interior dos frascos, promovendo melhor transpiração das folhas e impedindo o acúmulo de etileno (FILHO et al., 2002).

Tanto para a vedação tipo tampa plástica quanto para o papel alumínio, a concentração de 0,5mg L⁻¹ de ABA induziu menores valores numéricos para a abscisão (0,92 e 0,79, respectivamente). É possível que para a indução de um crescimento mínimo e manutenção de culturas viáveis sejam necessárias concentrações de ABA menores que 0,5mg L⁻¹.

Apesar das microestacas de mangabeira submetidas à ação do ABA terem sido avaliadas apenas por três meses, os resultados obtidos no presente trabalho indicam viabilidade para utilização do ABA em frascos com vedação de papel alumínio no processo de conservação *in vitro* de microestacas dessa espécie, sendo necessários estudos adicionais para testar o efeito desse regulador de crescimento por um maior período de tempo.

CONCLUSÃO

O manitol nas concentrações de 10, 15 e 20g L⁻¹ não é viável para a conservação *in vitro* de microestacas de mangabeira, uma vez que apresenta efeito tóxico sobre elas. O ácido abscísico na concentração de 0,5mg L⁻¹ apresenta viabilidade para a conservação *in vitro* de microestacas de mangabeira por um período de 90 dias, em frascos vedados com papel alumínio.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Tabuleiros Costeiros, à Fundação de Apoio à Pesquisa, à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe-FAPITEC/SE e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq (Processos n. 562728/2008-2, 474191/2007-9), pelo aporte de recursos financeiros e concessão de bolsa.

REFERÊNCIAS

- CANTO, A.M.M.E. et al. Conservação *in vitro* de germoplasma de abacaxi tratado com pacllobutrazol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.7, p.717-720, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2004000700014&lng=en&nrm=iso&tlang=pt>. Acesso em: 13 fev. 2010. doi: 10.1590/S0100-204X2004000700014.
- FARIA, G.A. et al. Efeito da sacarose e do sorbitol na conservação *in vitro* de *Plassiflora giberti* N. E. Brown. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, n.2, p.267-270, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-2945200600200025&lng=en&nrm=iso&tlang=pt>. Acesso em: 10 fev. 2010. doi: 10.1590/S0100-2945200600200025.
- FERREIRA, E.G. et al. Frutíferas. In: SAMPAIO, E.V.S.B. et al. (Org.). **Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial**. Recife: Associação Plantas do Nordeste, 2005. p.49-100.
- FILHO BUFFA, W. et al. Indução de metabólitos bioativos em culturas de células de *Maytemus tiefolia*. **Eclética Química**, São Paulo, v.27, n. especial, p.403-416, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-46702002000200033&lng=en&nrm=iso&tlang=pt>. Acesso em: 13 fev. 2010. doi: 10.1590/S0100-46702002000200033.
- FORTES, G.R.L.; PEREIRA, J.E.S. Preservação *in vitro* de batata em ácido acetilsalicílico e duas fontes de carboidrato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.10, p.1261-1264, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X200100100007&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 10 fev. 2010. doi: 10.1590/S0100204X200100100007.
- INIBAP. **Global conservation strategy for Musa (banana and plantain)**. Montpellier: International Network for the Improvement of Banana and Plantain, 2006. 27p.
- JARRET, R.L.; GAWEL, N. Abscisic acid-induced growth inhibition of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v.24, p.13-18, 1991.
- LAMBARDI, M. et al. Medium- and long-term *in vitro* conservation of olive germplasm (*Olea europaea* L.). **Acta Horticulturae**, v.586, p.109-112, 2002. Disponível em: <http://www.actahort.org/members/showpdf?booknrnr=586_14>. Acesso em: 13 fev. 2010.
- LEMOS, E.E.P de. et al. Conservação *in vitro* de germoplasma de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.10, p.1359-1364, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X200200100002&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 15 fev. 2010. doi: 10.1590/S0100-204X200200100002.
- LÉDO, A. da S. et al. Efeito da sacarose e do manitol na conservação *in vitro* por crescimento lento do coqueiro anão. **Magistra**, Cruz das Almas, v.19, p.346-351, 2007.
- KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452p.
- NEPOMUCENO, C.F. et al. Controle da abscisão foliar e morfogênese *in vitro* em culturas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebiba* (Griseb) Altschul. **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.5, p.967-975, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622007000500021&lng=en&nrm=iso&tlang=pt>. Acesso em: 13 fev. 2010. doi: 10.1590/S0100-67622007000500021.
- OLIVEIRA, M. do S.P. et al. Viabilidade de pólen *in vivo* e *in vitro* em genótipos de açaizeiro. **Acta Botânica Brasileira**, São Paulo, v.15, n.1, p.27-33, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062001000100004&lng=en&nrm=iso&tlang=pt>. Acesso em: 13 fev. 2010. doi: 10.1590/S0102-33062001000100004.
- RADEMACHER, W. Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.51, p.501-531, 2000.