

Influência de reguladores de crescimento no cultivo *in vitro* de *Dolichandra unguis-cati* (L.) L.G. Lohmann a partir de estacas caulinares

Joseane Siqueira¹, Elisete Maria de Freitas² & Eduardo Périco³

Centro Universitário UNIVATES, Graduada em Ciências Biológicas, Avenida Avelino Tallini, 171, bairro Universitário, Lajeado, Rio Grande do Sul, Brasil. joseane.siqueira@yahoo.com.br

²Centro Universitário UNIVATES, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

³Centro Universitário UNIVATES, Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento.

Recebido em 14.XII.2012. Aceito em 24.IX.2014

RESUMO – *Dolichandra unguis-cati* é uma liana nativa com indicação como ornamental, medicinal e como alimento. Tais características mostram a importância para o desenvolvimento de experimentos de propagação da espécie. O objetivo do estudo foi avaliar a relação auxina/citocina no estabelecimento *in vitro* da espécie, visando definir as concentrações adequadas a serem usadas. Segmentos nodais foram inoculados em meio MS com diferentes concentrações de ANA (ácido naftalenoacético) e BAP (ácido 6-Benzilaminopurina). Passados trinta dias, os protocormos foram avaliados quanto ao número de brotações e folhas, presença e comprimento de raízes, altura e massa fresca. A produção de mudas da espécie é viável sem o uso de fitorreguladores, porém o tratamento constituído pela combinação de 0,5 mg L⁻¹ de ANA e 2,0 mg L⁻¹ de BAP é o mais indicado para a propagação do genótipo.

Palavras-chave: ácido 6-Benzilaminopurina, ácido naftalenoacético, propagação vegetativa

ABSTRACT – **Influence of growth regulators on *in vitro* culture of *Dolichandra unguis-cati* (L.) L.G. Lohmann from stem cuttings.** *Dolichandra unguis-cati* is a native vine used as an ornamental, for medicinal purposes, and as a food source. These characteristics show the importance of the development of species propagation experiments. This study aimed to assess the auxin/cytokine species relationship *in vitro* by setting the appropriate concentrations to be used. Nodal segments were cultured on MS medium with different concentrations of NAA (naphthalene acetic acid) and BAP (6-benzylaminopurine acid). After thirty days, the protocorms were evaluated for the number of shoots and leaves, presence and length of roots, fresh weight and height. The production of seedlings of the species is feasible without the use of growth regulators, but the processing consisting of the combination of 0.5 mg L⁻¹ NAA and 2.0 mg L⁻¹ BAP is the most suitable for the propagation of the genotype.

Key words: 6-benzylaminopurine acid, naphthaleneacetic acid, vegetative propagation

INTRODUÇÃO

A família *Bignoniaceae* é representada por cerca de 120 gêneros e 800 espécies arbóreas, arbustivas e trepadeiras, com distribuição pantropical e

pronunciada ocorrência nos neotrópicos (Silva & Queiroz 2003, Souza & Lorenzi 2008). Segundo Lorenzi (2008), a exuberância durante o florescimento faz com que muitas espécies da família sejam utilizadas na ornamentação de praças,

parques, avenidas e casas. Nos últimos anos tem-se verificado cada vez mais o uso de espécies da família também na medicina (Agra *et al.* 2007, 2008).

Dentre as espécies da família está *Dolichandra unguis-cati* (L.) L.G.Lohmann (= *Macfadyena unguis-cati* (L.) A.H. Gentry), liana nativa, com ocorrência em todos os estados do Brasil. Apresenta folhas compostas com a margem dos folíolos inteira, flor com cálice verde, campanulado, glabro; corola glabra amarela; ovário glabro. Os frutos são achatados, esparsamente lepidotos, do tipo síliqua, deiscentes, através das quais as sementes aladas são dispersas pelo vento a longas distâncias (Lopes *et al.* 2006, Agra *et al.* 2007, 2008). É facilmente reconhecida por apresentar gavinhas trifurcadas no ápice, terminadas em garras semelhantes a unhas de gato (Silva & Queiroz 2003). Segundo Lorenzi (2008), as flores são polinizadas por abelhas, crescem em bordas de mata e áreas abertas, inclusive em áreas urbanas, podendo cobrir completamente a copa das árvores graças ao crescimento intenso. Para Kinupp (2007), a espécie é ocasionalmente cultivada como ornamental pelas vistosas flores amarelas, as quais podem ser fontes de compostos químicos, merecendo estudos específicos.

Segundo Martins *et al.* (2000), no Brasil, a utilização de plantas no tratamento de doenças apresenta influências da cultura indígena e africana, sendo esta, para muitas comunidades, a única alternativa viável para o tratamento de doenças e manutenção da saúde.

Um estudo quanto ao uso de plantas medicinais nativas, realizado por Paula *et al.* (2009), indicou que as raízes de *D. unguis-cati* são utilizadas pela população para tratamento de hepatite, reumatismo e como anti-inflamatório. As folhas são utilizadas para alergias, bronquite, diabetes e como cicatrizante de feridas, já o caule tem o uso voltado para o aumento da imunidade. Lorenzi & Matos (2002) também apontam o uso das raízes para o tratamento da hepatite e ainda, Ferrari *et al.* (1981) indicam o uso das raízes tuberosas como alimento, tendo em vista que, quando cozidas, apresentam consistência firme e crocante, com sabor suave. Domínguez (1928), em estudo realizado com a espécie, afirma que ela possui flavonoides e taninos, sendo o caule utilizado contra veneno ofídico e febre.

A potencialidade das plantas medicinais e a possibilidade de que passem a ser utilizadas como fitoterápicas torna importante a padronização das espécies de plantas. Lopes *et al.* (2006) afirma que é importante formar bancos de germoplasma contendo

matrizes de mudas sadias e perfeitas para serem oferecidas aos vários segmentos da comunidade, interessados no cultivo das plantas medicinais. Diante disso, a cultura de tecidos é uma excelente ferramenta para clonar plantas em escala comercial, além de colaborar na realização de estudos de transformação genética e conservação de espécies vegetais. Permite ainda aperfeiçoar a interação entre fatores abióticos (nutricionais, luminosos, temperatura etc.) e bióticos (hormonais e genéticos), resultando em plantas sadias, vigorosas e geneticamente superiores, que podem ser multiplicadas massivamente (Ferreira *et al.* 1998). Segundo Mello (1999), a multiplicação rápida permite a seleção de material superior precoce e a produção em larga escala e em pequeno espaço físico, visando à criação de um protocolo para intercâmbio de material genético, resgate de germoplasma, garantindo a preservação de material ameaçado, redução no período de germinação, isenção de pragas e doenças e uniformização nos protocormos obtidos.

Para George & Sherrington (1984), para suprir deficiências dos teores endógenos de fitormônios nos explantes em cultivo *in vitro*, pode ser adicionado reguladores de crescimento ao meio nutritivo. As auxinas e citocinas são as mais usadas no cultivo *in vitro* (Silveira *et al.* 2002). Das citocinas comercialmente disponíveis, o ácido 6-Benzilaminopurina (BAP) tem sido mais utilizado para estimular a formação de brotações *in vitro* (Hu & Wang 1983). A fonte de citocina, assim como sua concentração, são os fatores que mais influenciam o processo de desenvolvimento *in vitro* (Mantovani *et al.* 2001, Cordeiro *et al.* 2004). As auxinas, de maior ocorrência natural nas plantas, têm função de estimular o início da divisão celular. Para a sua substituição no cultivo *in vitro* são utilizadas auxinas sintéticas, dentre as quais está o ácido naftalenoacético (ANA) (Silveira *et al.* 2002).

Em razão da ausência de relatos sobre cultivo *in vitro* com *D. unguis-cati* e da sua importância ornamental, e uso popular como medicinal e nutricional, o estudo teve como objetivo, avaliar a relação auxina/citocina no estabelecimento *in vitro* da espécie, definindo as concentrações adequadas a serem usadas para a propagação do genótipo utilizado.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas matrizes de *D. unguis-cati* foram obtidas a partir da germinação de sementes em substrato com casca de pinus bioestabilizada em casa de vegetação.

Após o crescimento, foram submetidas à aplicação por quatro dias do fungicida Orthocide (1 g/100 ml), visando à prevenção de possíveis contaminações por fungos durante a propagação *in vitro*. Assim como a etapa prévia da desinfestação, todas as etapas do experimento foram conduzidas no Laboratório de Propagação de Plantas (LPP) e casa de vegetação do Centro Universitário UNIVATES.

Os segmentos nodais utilizados para a propagação *in vitro* foram segmentos nodais de um centímetro de comprimento. Estes, antes da inoculação, passaram por processo de desinfestação, constituído da submersão em um recipiente com água autoclavada com duas gotas de detergente neutro durante cinco minutos. Em seguida, foram imersos em álcool 70% por 60 segundos e então, por 20 minutos em solução contendo hipoclorito de sódio comercial (70%), acrescido de duas gotas de detergente neutro, de 2,0 mg L⁻¹ do fungicida Orthocide e de 0,5 mg L⁻¹ do bactericida Cloranfenicol. Após, foram realizadas quatro lavagens com água destilada autoclavada. Todo o procedimento de desinfestação foi realizado em capela de fluxo laminar. Antes da inoculação os explantes foram submetidos à pesagem em balança de precisão para verificação da massa fresca e permitir o conhecimento do acréscimo de biomassa durante o período de cultivo *in vitro*. O meio de cultivo utilizado foi o Murashige e Skoog (MS) (1962), solidificado com 7,0 g L⁻¹ de ágar. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C por 20 minutos. Ao meio de cultura MS foi adicionado diferentes concentrações dos reguladores de crescimento BAP e ANA, constituindo os tratamentos T1 (controle - 0 mg L⁻¹); T2 (0,3 mg L⁻¹ de ANA); T3 (0,5 mg L⁻¹ de ANA); T4 (2,0 mg L⁻¹ de BAP); T5 (4,0 mg L⁻¹ de BAP); T6 (0,5 mg L⁻¹ de ANA e 2,0 mg L⁻¹ de BAP); T7 (0,5 mg L⁻¹ de ANA e 4,0 mg L⁻¹ de BAP). Cada tratamento foi composto por 60 repetições, sendo que cada repetição foi formada por um tubo de ensaio (25 X 150 mm). Depois de inoculados, os tubos de ensaio com os segmentos nodais foram mantidos em sala de crescimento por 30 dias com temperatura de 25(±3)°C e fotoperíodo de 16 horas. A aclimatização dos protocormos obtidos foi realizada em casa de vegetação.

Aos trinta dias após a implantação do experimento, os protocormos obtidos foram retirados dos tubos de ensaio e avaliados quanto ao número de brotações, número de folhas, presença ou não de raízes, altura e massa fresca, verificada pela pesagem dos protocormos em balança digital analítica com precisão de 0,001g.

Para comparar os tratamentos, para cada variável, com exceção da presença/ausência de raízes, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn. Para comparar a presença/ausência de raízes entre os tratamentos foi aplicado o teste de qui-quadrado de partição.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento, as pulverizações com fungicida das plantas matrizes, realizadas previamente em casa de vegetação, seguida da desinfestação dos segmentos nodais em laboratório, antes da inoculação, foram totalmente eficazes para a espécie, uma vez que os explantes não apresentaram problemas de oxidação ou contaminação. Conforme relatado por autores, como Vieitez (1980) onde a oxidação de explantes nodais se constitui numa grande dificuldade na propagação vegetativa. Ao repetir a desinfestação de explantes coletados de plantas do ambiente natural houve intensa contaminação por fungos e bactérias, evidenciando a necessidade de manutenção das plantas matrizes em casa de vegetação, acompanhada da pulverização por fungicida.

Aos trinta dias, ao avaliar os protocormos obtidos constatou-se que para todas as variáveis avaliadas, o tratamento T6 (0,5 mg L⁻¹ de ANA e 2,0 mg L⁻¹ de BAP) apresentou as maiores médias, embora nem sempre difere dos demais significativamente (Tabela 1). Em relação ao número de brotações, em T6 a média de brotos formados foi 1,70, diferindo significativamente de T4, cuja média foi a menor (1,21) e T7 (1,31). Observou-se que as novas brotações formadas *in vitro* desenvolveram-se sempre a partir das gemas axilares existentes nos explantes nodais inoculados, cujo número de gemas foi padronizado em todos os segmentos. Quanto ao número de folhas, o tratamento T6, com média de 2,18 folhas por segmento, diferiu significativamente de T2, T3 e T5, cujas médias foram relativamente inferiores (1,58; 1,67; 1,52, respectivamente). A segunda maior média foi do T7 (2,10). O tratamento T5 apresentou menor média no número de folhas (1,52).

Quanto à presença de raízes formadas na base dos segmentos, foi maior em T6, com 39 dos 60 explantes inoculados enraizados, correspondendo a média de 0,65. Assim diferiu significativamente dos demais tratamentos, como é o caso de T3 e T5, cujas médias de segmentos enraizados foram, respectivamente, 0,07 e 0,05. Com relação ao comprimento da raiz (Tabela 1), a melhor média também foi em T6 (1,65 cm),

diferindo dos demais tratamentos. A menor média apresentada foi no T5 (0,02), sendo praticamente insignificante para a variável analisada. Além de um maior número de segmentos terem enraizado em T6, as raízes formadas também apresentaram maior comprimento, favorecendo o crescimento dos protocormos em formação, pois atuam na absorção de água e nutrientes. É provável que as concentrações de BAP (citocina) e ANA (auxina) utilizados em T6, favoreceram a formação de brotações com folhas, raízes, crescimento em altura e aumento da massa fresca.

A variável massa fresca é de extrema importância, pois mostra o quanto a plântula acrescentou de biomassa durante determinado período. A verificação da massa fresca antes da inoculação indicou média de 0,02 g por segmento. A pesagem da massa fresca no final do período de cultivo *in vitro*, aos 30 dias, demonstrou que houve um acréscimo de biomassa, especialmente em T6, cuja média foi de 0,14 g. Nos

tratamentos T1, a massa fresca média foi de apenas 0,03 g, indicando um baixo crescimento celular.

Para Skoog & Miller (1957), as auxinas e citocinas são essenciais ao desenvolvimento das plantas, pois controlam os processos de divisão, expansão e diferenciação celular. De acordo com Vieira & Monteiro (2002), as citocinas estimulam o desenvolvimento de porções de tecido meristemático presente nas gemas axilares, desencadeando divisões celulares que culminam no surgimento de brotações ou na formação de calos.

Isso pode ser observado no presente estudo onde, ao associar uma auxina (ANA) com uma citocina (BAP), obtiveram-se melhores resultados. Nos tratamentos T2 e T3, onde o meio apresenta apenas o fitorregulador ANA, as médias para número de brotos (1,51; 1,35 respectivamente) e comprimento da raiz (0,06; 0,04) foram inferiores ao T6 que apresenta os fitorreguladores ANA e BAP. O mesmo ocorreu em T4 e T5, cujos meios apresentam apenas o fitorregulador BAP.

Tabela 1. Média e Desvio Padrão das variáveis número de brotações (NB), número de folhas (NF), comprimento raiz (CR), altura (A) e massa fresca (MF), obtidas nos protocormos de *Dolichandra unguis-cati* durante o cultivo *in vitro* nos sete tratamentos.

Tratamentos	NB	NF	CR	A	MF
T 1	1,48 (±0,56)A	1,95 (±0,96)A	0,29 (±0,60)a	2,33 (±0,69)abcd	0,03 (±0,03)abcd
T 2	1,51 (±0,50)A	1,58 (±0,56)a	0,06 (±0,17)b	1,92 (±0,37)ae fg	0,06 (±0,12)ef
T 3	1,35 (±0,51)A	1,67 (±1,02)b	0,04 (±0,17)c	2,35 (±0,97)hij	0,05 (±0,03)g
T 4	1,21 (±0,41)a	1,92 (±1,06)A	0,42 (±0,83)d	2,47 (±0,70)ekl	0,07 (±0,07)ae
T 5	1,53 (±0,50)A	1,52 (±0,50)c	0,02 (±0,07)e	1,87 (±0,43)bhkmn	0,05 (±0,03)bh
T 6	1,70 (±0,59)ab	2,18 (±0,97)abc	1,65 (±1,75)abcdef	3,22 (±0,87)cfiklm	0,14 (±0,15)cefghi
T 7	1,31 (±0,46)b	2,10 (±1,12)A	0,30 (±0,79)f	2,74 (±0,54)dgn	0,05 (±0,02)di

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Dunn. Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Dunn. (T1=controle; T2=0,3 mg L⁻¹ de ANA; T3=0,5 mg L⁻¹ de ANA; T4=2,0 mg L⁻¹ de BAP; T5=4,0 mg L⁻¹ de BAP; T6=0,5 mg L⁻¹ de ANA e 2,0 mg L⁻¹ de BAP; T7=0,5 mg L⁻¹ de ANA e 4,0 mg L⁻¹ de BAP).

Kantharajah & Dodd (1990) e Kawata *et al.* (1995) obtiveram melhores respostas para o desenvolvimento e multiplicação de gemas caulinares da espécie *Passiflora edulis* Sims em meio MS suplementado com $0,23 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, comprovando a importância deste regulador na propagação vegetativa *in vitro* de espécies vegetais de interesse.

As pesquisas de Mantovani *et al.* (2007) confirmaram a eficiência do BAP como indutor de brotações em segmentos nodais de *Cordia trichotoma* (Vell.) Arráb. ex Steud. Paiva *et al.* (2007), obtiveram maior número de brotos de *Sinningia speciosa* (Lodd.) Hiern (= *Gloxinia speciosa* Lodd.) ao empregar 2 mg L^{-1} de BAP. No caso do presente estudo, esta foi a concentração ideal de BAP na propagação da espécie. Segundo Zaerr & Mapes (1985) o fitoregulador BAP é a citocina mais eficaz para a multiplicação de partes aéreas para a maioria das espécies.

Segundo Figueiredo (1995), a combinação da auxina, Ácido Naftalenoacético (ANA) com a citocina Benzilaminopurina (BAP) é importante para indução do processo de formação de estruturas semelhantes às raízes tuberosas *in vitro* em *Ipomoea batatas* (L.) Lam. No presente estudo, o tratamento T6 ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ANA e $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ BAP) apresentou melhores médias para comprimento da raiz (1,65 cm), diferindo significativamente de T1 (0,29 cm).

Abreu *et al.* (2003) constataram que a presença de reguladores de crescimento no meio de cultura influenciou significativamente nos resultados do estudo com a espécie *Cissus sicyoides* L., onde apresentou médias baixas em todas as variáveis sem adição de fitoreguladores, semelhante ao obtido no presente estudo em que as médias do número de brotos, folhas, comprimento da raiz, altura e massa fresca no tratamento T1, também, sem adição de fitoreguladores, foram baixas.

Em explantes de *Syngonium angustatum* Schott, os autores Schwertner & Zaffari (2003) verificaram um aumento no número de brotações com $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, havendo uma redução quando utilizaram as concentrações de $2,5$ e $4,0 \text{ mg L}^{-1}$. O mesmo não foi observado no presente estudo, pois em T6, constituído por $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP e $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA, os protocormos apresentaram melhor resultado para todas as variáveis. Segundo Macedo *et al.* (2003), protocormos de *Ananas comosus* L. Merr. (L.), ao serem submetidas a tratamentos com pequenas concentrações de BAP juntamente com ANA obtiveram maior massa fresca, conforme o

ocorrido no presente estudo, onde os protocormos de T6 também apresentaram maior acréscimo de massa fresca.

Para Taiz & Zeiger (1991), o controle do desenvolvimento de raízes adventícias é influenciado por substâncias reguladoras de crescimento. As auxinas são os únicos reguladores que aumentam a formação de primórdios radiculares, podendo assim ter sido o responsável pela formação de raízes. Diniz *et al.* (2006) em trabalho realizado com *Mikania glomerata* Spreng., observaram diferenças significativas no meio MS com $4,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, onde ocorreu o maior número médio de brotações por explante (2,29). Esta concentração de BAP pode ter sido prejudicial para o desenvolvimento dos protocormos do presente estudo, já que a média no número de brotações foi de 1,31, comparado com 1,7 onde a concentração de BAP era de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$. Para o presente estudo, houve diferença significativa entre as variáveis, sendo que o melhor foi o tratamento T6, com média de 0,65.

CONCLUSÃO

A produção de mudas pela técnica de cultivo *in vitro* de *Dolichandra unguis-cati* é viável com ou sem o uso de reguladores de crescimento, no entanto, o tratamento constituído pela combinação de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA e $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, apresenta as melhores médias para número de brotos, número de folhas, presença de raízes, comprimento da raiz, altura e massa fresca, sendo o mais indicado para a propagação da espécie.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul pela bolsa concedida. Ao Centro Universitário UNIVATES, à Secretaria da Ciência, Inovação e Desenvolvimento tecnológico, à Prefeitura Municipal de Lajeado e ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação pelo financiamento da pesquisa. Aos colegas do Laboratório de Propagação de Plantas da Univates pelo apoio e auxílio nos trabalhos, especialmente à Maíra Filter (*in memoriam*).

REFERÊNCIAS

Abreu, I.N. 2003. Propagação *in vivo* e *in vitro* de *Cissus sicyoides*, uma planta medicinal. *Acta Amazonica* 33(1):1-7.

- Agra, M.F., França, P.F. & Barbosa-Filho, J.M. 2007. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 17(1):114-140.
- Agra, M.F., Silva, K.N., Basílio, I.J.L.D., França, P.F. & Barbosa-Filho, J.M. 2008. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18(3):472-508.
- Cordeiro, I.M.C.C., Lameira, O.A., Ohashi, S.T. & Rosal, L.F. 2004. Efeito de BAP sobre a proliferação de brotos de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Paricá). *Cerne* 10(1):118-124.
- Diniz, J.D.N., Magalhães, J.R., Innecco, R., Almeida, J.L. & Pinho, J.L.N. De. 2006. Multiplicação e enraizamento *in vitro* do guaco. *Revista Ciência Agronômica* 37(1):59-64.
- Dominguez, J.A. 1928. Contribuciones a la Materia Médica Argentina. *En Trabajos del Instituto de Botanica y Farmacologia*. Buenos Aires. p.433-435.
- Ferrari F., Kiyani, C.I. De, K., Delle, M.F. & Marini, B.G.B. 1981. Quinovic acid glycosides from roots of *Macfadyena unguis-cati*. *Planta Medica* 43(1): 24-27.
- Ferreira, M.A., Caldas, L.S. & Pereira, E.A. 1998. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. *In Cultura de tecidos e transformação genética de plantas* (A.C. Torres, L.S. Caldas & J. Buso eds.). Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças, Brasília, p. 21-43.
- George, E.F. & Sherrington, P.D. 1984. *Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories*. Exegetics Limited, Eversley. 593 p.
- Hu, C.Y. & Wang, P.J. 1983. Meristem, shoot tip and bud cultures. *In Handbook of plant cell culture: techniques for propagation and breeding* (D.A. Evans, W.R. Sharp & P.V. Ammirato eds.) Mac Millan Publishing Company, New York. p.177-277.
- Kawata, K., Ushida, C., Kawai, F., Kanamori, M. & Kuriyama, A. 1995. Micropropagation of Passion fruit from Subcultured Multiple Shoot Primordia. *Journal of Plant Physiology* 147:281-284.
- Kantharajah, A.S. & Dodd, W.A. 1990. *In vitro* micropropagation of *Passiflora edulis* (purple passionfruit). *Annals of Botany* 65:337-339.
- Kinupp, V.F. 2007. *Plantas Alimentícias Não-Convencionais da Região Metropolitana de Porto Alegre* 590 f. Tese de doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Lopes, S.B. & Gonçalves, L. 2006. Elementos para Aplicação Prática das Árvores Nativas do Sul do Brasil na Conservação da Biodiversidade. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 18p.
- Lorenzi, H. 2008. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil*. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 384 p.
- Lorenzi, H. & Matos, F.J.A. 2002. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 512p.
- Macedo, C.E.C. De, Silva, M.G. Da, Nóbrega, F.S. Da, Martins, C.P., Barroso, P.A.V. & Alloufa, M.A.I. 2003. Concentrações de ANA e BAP na micropropagação de abacaxizeiro L. Merriel (*Ananas comosus*) e no cultivo hidropônico das plântulas obtidas *in vitro*. *Revista Brasileira de Fruticultura* 25:501-504.
- Mantovani, N.C., Franco, E.T.H. & Vestena, S. 2001. Regeneração *in vitro* de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel). *Ciência Florestal* 11(2):93-101.
- Martins, E.R., Castro, D.M., Castellani, D.C. & Dias, J.E. 2000. *Plantas Medicinais*. Editora Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.
- Mello, B. *Palmáceas*. 1999. Emater, Uberlândia. Disponível em: <http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/palmaceas.html>. Acesso em 04 de outubro de 2012.
- Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15(3):473-497.
- Paula, M.C.Z.De, Bolson, M., Cardoso Junior, E.L. & Hefler, S.M. 2009. Levantamento etnofarmacológico e resgate de germoplasma em remanescentes florestais da Floresta Estacional Semidecidual no Oeste do Paraná, Brasil. Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Toledo. 41p.
- Silva, M.M. Da & Queiroz, L.P. De. 2003. A família Bignoniaceae na região de Catolés, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* 3(1-2):3-21.
- Silveira, C.A.P. 2002. Multiplicação *in vitro* de porta-enxertos do gênero *Prunus* sob baixas concentrações e diferentes tipos de auxinas. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24(3):608-610.
- Souza, V.C. & Lorenzi, H. 2008. *Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III*. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 574 p.
- Taiz, L., Zeiger, E. 2008. *Fisiologia Vegetal*. Artmed, Porto Alegre. 820.p
- Vieitez, A.M. & Vieitez, M.L. 1980. Culture of chestnut shoots from buds *in vitro*. *Plant Physiology* 55:83-84.
- Zaer, J.B. & Mapes, M.O. 1985. Action of growth regulators. *In Tissue culture in forestry* (J.M. Bonga, Durzan, D.J., eds.). Martinus Nijhoff, Dordrech, p.231-255.