

COMUNICAÇÃO

EFEITO DE MEIOS DE CULTURA, CONCENTRAÇÕES DE GA₃ E pH SOBRE A GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomes)

Effect of culture media, GA₃ concentrations and pH on *in vitro* germination of *Hancornia speciosa* Gomes

Fernanda Pereira Soares¹, Renato Paiva², Vanessa Cristina Stein³, Fernanda Carlota Nery⁴,
Ráirys Cravo Nogueira⁵, Lenaldo Muniz de Oliveira⁶

RESUMO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) destaca-se por possuir um grande potencial como planta frutífera e produtora de borracha. As dificuldades encontradas no seu processo de propagação por meio de sementes, devido, principalmente, à baixa taxa de germinação e à recalcitrância, valorizam a busca por soluções alternativas para a produção de mudas dessa espécie, de maneira rápida e eficiente. Objetivou-se, neste trabalho, realizar o estudo da germinação de sementes de mangabeira em condições *in vitro*, tendo como precedente a obtenção de explantes, para posterior utilização no cultivo *in vitro*. Neste estudo foram avaliados os efeitos de diferentes meios de cultura, concentrações de sacarose e GA₃ e de três níveis de pH na germinação da mangabeira. Frutos maduros foram coletados, passaram por processo de beneficiamento e tiveram suas sementes retiradas e utilizadas como explantes. Maior porcentagem de germinação de sementes de mangabeira *in vitro* foi obtida com a utilização dos meios de cultura WPM e MS/2, suplementados com 15,0 g L⁻¹ de sacarose, 0,2 mg L⁻¹ de GA₃ e com pH corrigido para 5,8.

Termos para indexação: Sementes, propagação, mangaba, *Hancornia speciosa*.

ABSTRACT

The *Hancornia speciosa* Gomes species presents potential for fruit and rubber production. Propagation is difficult primarily due, to a reduced seed germination and occurrence of recalcitrant seeds that stimulate the search of rapid and efficient propagation alternatives. In this context, the aim of this work was to study *in vitro* seed germination conditions in order to produce explants to be used on *in vitro* culture. The effect of different culture media, sucrose and GA₃ concentrations and three pH levels were evaluated. Seeds were extracted from mature fruits after being harvested and processed. Higher *in vitro* germination was obtained using WPM and MS/2 media supplemented with 15.0 g L⁻¹, 0.2 mg L⁻¹ GA₃ and pH adjusted to 5.8.

Index terms: Seeds, propagation, mangaba, *Hancornia speciosa*.

(Recebido em 22 de setembro de 2006 e aprovado em 12 de março de 2007)

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), espécie arbórea do Cerrado, apresenta um grande potencial como planta frutífera e como produtora de borracha (PAULA, 1992). No entanto, com a inexistência de plantios racionais e tecnificados, o extrativismo é, atualmente, sua única forma de exploração, constituindo-se, assim, numa grande barreira para o aproveitamento de todas as suas potencialidades.

A propagação sexuada da mangabeira é dificultada pelo fato de suas sementes serem recalcitrantes e porque a polpa do fruto tem uma ação inibitória sobre a germinação destas (CAMPBELL, 1996; GRICOLETTO, 1997). Estudos de meios de cultura que favoreçam a germinação *in vitro* dessa espécie são importantes, tanto para maximizar a taxa de germinação como para obter plântulas com qualidade genética e fitossanitária adequada, que sirvam como fonte

¹Agrônoma, Doutora em Agronomia/Fisiologia Vegetal – Coordenação de Sementes e Mudas – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/MAPA – Esplanada dos Ministérios, Bloco D – 3 Andar – 70043-900 – Brasília, DF – fernandapsoares@hotmail.com

²Agrônomo, PhD em Agronomia pela University of Illinois/EUA – Departamento de Biologia – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Campus UFLA – Cx P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – renpaiva@ufla.br.

³Bióloga, Doutoranda no curso de Agronomia/Fisiologia Vegetal – Biologia – Setor de Fisiologia Vegetal – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Departamento de Biologia – Setor de Fisiologia Vegetal – Campus Universitário – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – vanessastein@ibest.com.br

⁴Agrônoma, Doutora em Fisiologia Vegetal/UFLA – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho – Rod. Muzambinho Km 35 – Bairro Morro Preto – 37890-000 – Muzambinho, MG – fernandacarlot@yahoo.com.br

⁵Ciências Biológicas, Bacharelado, Doutorado – Faculdade De Engenharia Florestal – Universidade Federal do Pará – R: Coronel José Porfírio, n 2515 – 68372-040 – Bairro São Sebastião – Altamira, Pará – rairys@ufpa.br

⁶Agrônomo, Doutor em Fisiologia Vegetal/UFLA – Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais – Universidade Estadual de Feira de Santana/UEFS – Horto Florestal, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais – Av. Presidente Dutra, s/n – Sta. Mônica – 44055-000 – Feira de Santana, BA – lenaldo@uefs.br

de explantes em experimentos de cultura de tecidos e que facilitem a conservação e transferência de germoplasma da espécie (PINHEIRO et al., 2001).

Quando o estabelecimento da cultura *in vitro* via material oriundo do campo ou de casa de vegetação traz o problema da contaminação endógena severa, essa pode ser a única fonte de material asséptico. Segundo Gricoletto (1997), a obtenção dos explantes, a partir de plântulas de sementes germinadas *in vitro* evita a contaminação do material vegetal e a baixa resposta morfogênética dos tecidos arbóreos adultos.

Durante o cultivo *in vitro*, as soluções de sais e açúcares que compõem os meios de cultura não exercem efeito puramente nutritivo, mas também influenciam o crescimento celular e a morfogênese por meio de propriedades osmóticas (GEORGE, 1996). Amador & Stewart (1987), trabalhando com germinação *in vitro* de várias espécies lenhosas, obtiveram sucesso no controle do potencial osmótico do meio de cultura, utilizando diferentes concentrações de sacarose.

Gmitter Junior & Moore (1986) e Rangaswamy (1963) obtiveram um significativo aumento na porcentagem de germinação variando concentrações de sacarose no meio de cultura em *Orobanche aegyptiaca* Pers. e *Citrus*, respectivamente. Resultados semelhantes também foram observados por Komatsuda (1992), em seus trabalhos com várias espécies lenhosas.

Segundo Souza (2003), dependendo da espécie, não há necessidade de suplementação do meio de cultura com sacarose. Porém, pode ser que, ao adicioná-la, consiga-se manter a plântula *in vitro* por um período de tempo maior.

Diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas. Não há uma formulação padrão, mas o meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), com suas modificações e diluições, tem sido adotado com sucesso para diversas espécies. Entretanto, o meio MS não se mostra satisfatório em alguns casos e composições mais diluídas em macronutrientes apresentam melhor desempenho (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). O meio nutritivo WPM (LLOYD & MCCOWN, 1980), por exemplo, apresenta 25% das concentrações de íons nitrato e amônia do meio MS, além de mais potássio e um alto nível de íons sulfato, sendo amplamente utilizado para a micropropagação de espécies lenhosas (PASQUAL, 2001).

O pH é considerado um fator crítico do meio de cultura (MURSASHIGE, 1974), influenciando na disponibilidade de nutrientes, de fitoreguladores e no grau de solidificação do ágar (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1990). Usualmente, é ajustado em uma faixa que varia de 5,0 a 6,5 (PIERIK, 1987), para o desenvolvimento adequado

da maioria das espécies; em níveis inferiores a 4,5 e superiores a 7,0, geralmente ocorre paralisação do crescimento e do desenvolvimento *in vitro* (JANSEN & CRONIN, 1953; MURASHIGE, 1974).

A presença de reguladores de crescimento no meio de cultura é também importante na regulação da germinação. Sabe-se, hoje, que as giberelinas têm um papel-chave nesse processo, estando envolvidas tanto na quebra da dormência como no controle da hidrólise de reservas, da qual depende o embrião em crescimento.

Enquanto para diversas espécies, as giberelinas aceleram a germinação e a emergência, para outras elas apresentam pequena resposta ou nenhum efeito. Carvalho (1997) observou que o ácido giberélico (GA_3) não contribuiu para acelerar a germinação *in vitro* de sementes de *Coffea arabica* L. e o desenvolvimento final das mudas. Decchetti (2000) obteve redução na taxa de germinação de sementes de *Annona glabra* L. quando utilizou 2,0 mg L⁻¹ de GA_3 no meio de cultura e, principalmente, quando esse foi associado à elevadas concentrações de sacarose.

Visando o estabelecimento de plantas que possam servir como fonte potencial de explantes para o cultivo *in vitro*, objetivou-se, no presente trabalho, estudar aspectos da germinação *in vitro* da mangabeira.

Frutos maduros de mangabeira foram coletados de populações naturais localizadas no município de Pitangui, região Centro-Oeste do estado de Minas Gerais e trazidos para o Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

Para a retirada das sementes, os frutos passaram por processo de beneficiamento, com retirada da polpa, imersão em hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M por 5 minutos e lavagem em água corrente com auxílio de peneira por 10 minutos. Em seguida, as sementes foram colocadas para secar à sombra.

Após o período de secagem, foram levadas para a câmara de fluxo laminar, imersas em álcool 70% (v/v) por 60 segundos e em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 1,0% de cloro ativo por 10 minutos. Ao final desse tempo, foram lavadas em água destilada e autoclavada e tiveram seus tegumentos retirados. Posteriormente, foram novamente imersas em solução de NaOCl com 1,0% de cloro ativo por mais 10 minutos, lavadas 5 vezes em água destilada e inoculadas em tubos de ensaio, contendo os diferentes tratamentos.

Foram testados os meios de cultura WPM, WPM2x (dobro da concentração de sais), WPM/2 (metade da concentração de sais), MS e MS/2 (metade da concentração de sais), suplementados com 30,0 g L⁻¹ de sacarose e solidificados com ágar 0,7%. O pH foi corrigido para 5,8 antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Em uma segunda etapa, foram testados três níveis de GA₃ (0,0; 0,2 e 0,4 mg L⁻¹) e três concentrações de sacarose (0,0; 15,0 e 30,0 g L⁻¹) (Tabela 1) no meio de cultura WPM, solidificado com ágar 0,7%. O pH foi corrigido para 5,8, antes da autoclavagem.

Tabela 1 – Tratamentos utilizados para a germinação de sementes de mangabeira em função da combinação de GA₃ + sacarose, no meio de cultura WPM.

Tratamentos	GA ₃ (mg L ⁻¹)	Sacarose (g L ⁻¹)
T0	0,0	0,0
T1	0,0	15,0
T2	0,0	30,0
T3	0,2	0,0
T4	0,2	15,0
T5	0,2	30,0
T6	0,4	0,0
T7	0,4	15,0
T8	0,4	30,0

Foram estudados ainda três níveis de pH (4,8; 5,8 e 6,8) no meio de cultura WPM, suplementado com 15,0 g L⁻¹ de sacarose, 0,2 mg L⁻¹ de GA₃ e solidificado com ágar 0,7%.

Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de 36 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 \pm 2°C. A avaliação foi realizada aos 30 dias de incubação, sendo observada a porcentagem de sementes germinadas em cada tratamento. Foi considerada germinada, a semente que apresentava a radícula protruída.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com 20 repetições por tratamento, sendo cada uma composta por um tubo de ensaio e cada tubo contendo uma semente.

A porcentagem de germinação de sementes de mangabeira, nos diferentes meios de cultura testados foi semelhante (Tabela 2), demonstrando a não significância dos tratamentos.

Efeitos não significativos do meio nutritivo foram observados também por Conceição (2000), testando diferentes concentrações do meio de cultura MS, na germinação de sementes de timbó (*Derris* sp.).

Tabela 2 – Porcentagem de germinação de sementes de mangabeira, em diferentes meios de cultura.

Meio de cultura	WPM	WPM2x	WPM/2	MS	MS/2
% de germinação	100%	95%	90%	95%	100%

Apesar da não significância, uma pequena superioridade dos meios de cultura WPM e MS/2, ambos proporcionando 100% de germinação, foi, no entanto, constatada.

A maior porcentagem de germinação de sementes de mangabeira, em meio nutritivo MS/2 em relação ao meio MS completo deveu-se, provavelmente, à diminuição do potencial osmótico promovido pela redução das concentrações de macro e micronutrientes do referido meio.

Grattapaglia & Machado (1990) afirmam que o meio MS completo não tem se mostrado satisfatório em alguns casos, para espécies lenhosas e que composições mais diluídas, como as do meio WPM, podem apresentar melhores resultados.

Bertoni et al. (2002) confirmam a eficiência do meio WPM na germinação de sementes de *Zeyheria montana* Mart., uma espécie medicinal do Cerrado. Os autores reportam que a utilização desse meio menos concentrado promoveu um bom desenvolvimento das plântulas e favoreceu o estabelecimento do protocolo de propagação *in vitro*, da espécie.

Pode-se visualizar, na Figura 1, etapas do processo de germinação *in vitro* e desenvolvimento pós-seminal da mangabeira.

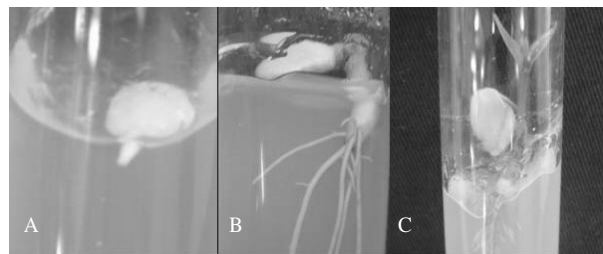


Figura 1 – Aspecto visual do processo de germinação *in vitro* e desenvolvimento pós-seminal de mangabeira: (A) protrusão radicular; (B) alongação radicular e surgimento de raízes laterais e (C) alongação do epicótilo.

Quanto ao uso do ácido giberélico e da sacarose, a maior porcentagem de sementes germinadas (90%) foi verificada no meio de cultura WPM, suplementado com 15,0 g L⁻¹ de sacarose e 0,2 mg L⁻¹ de GA₃ (T₄), diferenciando-se significativamente somente do tratamento controle (T₀), no qual ambos estavam ausentes (Tabela 3).

Tabela 3 – Porcentagem de sementes de mangabeira germinadas *in vitro*, sob diferentes concentrações de ácido giberélico (GA₃) e sacarose.

GA ₃ (mg L ⁻¹) e Sacarose (g L ⁻¹)	Porcentagem de germinação (%)
0,0 - 0,0	90 a
0,0 - 15,0	85 a
0,0 - 30,0	85 a
0,2 - 0,0	80 a
0,2 - 15,0	80 a
0,2 - 30,0	80 a
0,4 - 0,0	70 a
0,4 - 15,0	70 a
0,4 - 30,0	55 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Pereira et al. (2006), trabalhando com *Uncaria guianensis* J.F. Gmelin, também obtiveram os maiores percentuais de germinação na presença de 15,0 g L⁻¹ de sacarose, independente da concentração do meio nutritivo utilizado.

A menor porcentagem de sementes germinadas (55%) foi verificada na ausência de sacarose e GA₃ no meio de cultura. Azevedo et al. (2002), ao contrário, obteve maiores porcentagens de germinação *in vitro* de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em meio de cultura MS, desprovido de sacarose. Resultados semelhantes também foram obtidos em sementes de *Annona glabra* L. (DECETTI, 2000).

A adição de 0,2 mg L⁻¹ de ácido giberélico ao meio de cultura favoreceu a germinação. No entanto, observou-se que concentrações superiores a essa provocaram uma diminuição na porcentagem de sementes germinadas.

Pinheiro et al. (2001), testando diferentes concentrações de ácido giberélico na germinação *in vitro* de sementes de mangabeira, verificaram que a adição de 0,1 mg L⁻¹ desse regulador favoreceu o processo germinativo. Contudo, concentrações iguais ou superiores a 0,3 mg L⁻¹ provocaram uma diminuição na porcentagem de sementes dessa espécie germinadas.

Em meio de cultura suplementado com 0,4 mg L⁻¹ de GA₃, quando a concentração de sacarose foi superior a 15,0 g L⁻¹, foi verificada uma redução significativa da porcentagem de sementes de mangabeira germinadas. Provavelmente, a maior quantidade de sacarose pode ter afetado a força osmótica do meio de cultura, prejudicando

o processo germinativo. Segundo George (1996), concentrações elevadas de sacarose tornam a água do meio indisponível para a embebição das sementes, impossibilitando o início da germinação.

Resultados semelhantes foram encontrados por Gomes (1999) que obteve maior porcentagem de germinação de sementes de moreira (*Maclura tinctoria* D. Don ex Steud) em meios suplementados com sacarose, porém, em menores concentrações.

Nos diferentes níveis de pH testados, a porcentagem de germinação de sementes de mangabeira foi semelhante (Tabela 4), demonstrando a não significância dos tratamentos.

Tabela 4 – Porcentagem de germinação de sementes de mangabeira em diferentes níveis de pH.

pH	4,8	5,8	6,8
% de germinação	95	100	90

Resultados semelhantes foram encontrados por Nascimento (2006) e Nicioli (2006) que, também não observaram efeito significativo do pH na germinação *in vitro* de sementes de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) e uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.), respectivamente.

Elevada porcentagem de germinação foi verificada em toda a faixa de pH utilizada. Resultados semelhantes foram obtidos por Therios (1982) que constatou que sementes de *Prunus amygdalus* Stokes germinam em ampla faixa de pH sem apresentarem diferenças percentuais significantes.

De acordo com Huxley (1964), a germinação de sementes de muitas espécies não é dependente do pH, dentro dos limites fisiológicos. Sabe-se, no entanto, que ele é um fator controlador das vias metabólicas e da permeabilidade das membranas celulares, uma vez que afeta inúmeras reações enzimáticas (DAVIS, 1980).

Segundo Eberlein (1987), efeitos deletérios sobre a germinação e o desenvolvimento de diferentes espécies de plantas têm sido relatados em condições de pH abaixo de 4 e superior a 10.

A concentração de sais nos meios de cultura WPM, WPM2x, WPM/2, MS e MS/2 não limita a elevada taxa de germinação das sementes de mangabeira.

A germinação de sementes de mangabeira é maximizada em meio de cultura suplementado com 0,2 mg L⁻¹ de GA₃ e 15,0 g L⁻¹ de sacarose.

Esta espécie apresenta elevadas taxas de germinação na faixa de pH que varia de 4,8 a 5,8.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMADOR, A. M.; STEWART, K. A. Osmotic potencial and pH of fluid drilling gels as influenced by moisture loss and incorporation of growth regulators. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 112, p. 26-28, 1987.
- AZEVEDO, K. S. de; PAIVA, R.; SANTOS, C. G. dos. Efeito de diferentes concentrações de sacarose na germinação *in vitro* de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 17., 2002, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: UFMT, 2002. CD-ROM.
- BERTONI, B. W.; PINA, E. S.; FRANÇA, S. C. de. Micropropagação de *Zeyheria Montana* Mart.: uma planta medicinal do cerrado. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2002, Cuiabá, MT. **Anais...** Cuiabá: UFMT, 2002. CD-ROM.
- CAMPBELL, R. J. South American fruits deserving further attention. In: JANICK, J. (Ed.). **Progress in new crops**. Arlington: ASHS, 1996. p. 431-439.
- CARVALHO, G. R. **Germinação de sementes e aclimatização de plântulas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) propagadas *in vitro***. 1997. 64 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.
- CONCEIÇÃO, H. E. O. da. **Cultivo *in vitro*, nutrição mineral e quantificação de rotenóides em timbós (*Derris sp.*)**. 2000. 191 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.
- DAVIS, D. D. **Biochemistry of plants**. New York: Academic, 1980. v. 2, p. 581-611.
- DECCEITI, S. F. C. **Propagação *in vitro* de *Annona glabra* L.** 2000. 101 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.
- EBERLEIN, C. V. Germination of *Sorghum alnum* seeds and longevity in soil. **Weed Science**, v. 35, n. 6, p. 796-801, 1987.
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 1, the technology**. Edington: Exegetics, 1996. 1574 p.
- GMITTER JUNIOR, F. G.; MOORE, G. A. Plant regeneration from undeveloped ovules and embryogenic calli of *Citrus*: embryo production, germination and plant survival. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 6, n. 2, p. 139-147, 1986.
- GOMES, G. A. **Propagação *in vitro* de Moreira (*Maclura tinctoria*)**. 1999. 91 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. L.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: ABCTP/Embrapa-CNPq, 1990. p. 99-170.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998. v. 1, p. 183-260.
- GRICOLETTO, E. R. **Micropropagação de *Hancornia speciosa* Gomes (Mangabeira)**. 1997. 76 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Brasília, Brasília, DF, 1997.
- HUXLEY, P. A. The effects of hydrogen-ion concentration temperature and seed drying method on the germination of coffee seeds. **Proceedings of the International Seed Test Association**, Wallingford, v. 29, p. 61-70, 1964.
- JANSEN, L. L.; CRONIN, E. H. Halogeton on trial. **Utah Farm and Home Science**, Ogden, v. 14, p. 38-39, 1953.
- KOMATSUDA, T.; LEE, W. Maturation and germination of somatic embryos as affected by sucrose and plant growth regulators. **Plant Cell Tissue and Organ culture**, Amsterdam, v. 28, n. 1, p. 103-113, Jan. 1992.
- LLOYD, G.; MCCOWN, 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.
- MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 25, p. 135-166, 1974.

- MURASHIGE, R.; 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.
- NASCIMENTO, A. da C. **Micropropagação de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess.)**. 2006. 125 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.
- NICIOLI, P. M. **Micropropagação e aspectos fitoquímicos de calos de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville)**. 2006. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.
- PASQUAL, M. **Textos acadêmicos: meios de cultura**. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001. 127 p.
- PAULA, J. E. de. Cerrado: sugestão para a adequação entre produção e preservação. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 16, p. 1-2, 47-48, 1992.
- PEREIRA, R. de C. A.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CASTRO, E. M. de; SILVA, F. G. Germinação, avaliação do ácido giberélico e posição do explante no alongamento *in vitro* de *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmelin Rubiaceae (unha-de-gato). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 637-642, jul./ago. 2006.
- PIERIK, R. L. M. **In vitro culture of higher plants**. Dordrecht: M. Nyhoff, 1987. 344 p.
- PINHEIRO, C. S. R.; MEDEIROS, D. N. de; MACEDO, C. E. C. de; ALLOUFA, M. A. I. Germinação *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez) em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 413-416, ago. 2001.
- RANGASWAMY, N. S. **Studies on culturing seeds of *Orobanche aegyptiaca***. [S.l.: s.n.], 1963.
- SOUZA, A. V. de. **Propagação *in vitro* e aspectos anatômicos de arnica [*Lychnophora pinaster* (Mart.)]**. 2003. 126 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.
- THERIOS, I. N. Effects of temperature, moisture stress and pH on the germination of seeds of almond (*Prunus amygdalus*). **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 10, n. 3, p. 585-594, 1982.