



COMUNICADO
TÉCNICO

446

Colombo, PR
Maio, 2020

Embrapa

Micropropagação de guabirobeira a partir de segmentos nodais

Jean Santos Machado
Juliana Degenhardt
Marguerite Quoirin

Micropropagação de guabirobeira a partir de segmentos nodais

Jean Santos Machado, Biólogo, mestre em Botânica, doutorando em Bioquímica pela Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR; **Juliana Degenhardt**, Engenheira-agrônoma, doutora em Biotecnologia, pesquisadora da Embrapa Florestas, Colombo, PR; **Marguerite Quoirin**, Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, professora sênior da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR

Campomanesia xanthocarpa O. Berg é uma espécie nativa do Brasil pertencente à família Myrtaceae, popularmente conhecida como guabiroba, que ocorre nos Biomas Cerrado e Mata Atlântica (Sobral et al., 2016). Além do Brasil, ocorre no Paraguai, Argentina e Uruguai.

Embora a espécie não seja cultivada comercialmente no Brasil, seus frutos são apreciados tanto pelos homens quanto pelos animais nas regiões onde ocorre naturalmente. A época de floração ocorre durante os meses de setembro a novembro e seus frutos amadurecem nos meses de novembro e dezembro (Lorenzi, 1992). A composição nutricional dos frutos mostrou que a espécie é fonte alimentar potencial de proteínas, carboidratos e sais minerais (Cordeiro et al., 2010), além de considerável quantidade de fibras alimentares (6,26%) (Napoli et al., 2013). Destaque deve ser dado também para a quantidade muito baixa de lipídeos, o que corrobora as afirmações **apontando-a como alternativa para uma fonte de alimentação saudável e rica em minerais, com baixo valor calórico** (Andrade et al., 2012). Os

teores de alguns minerais como potássio e cálcio são superiores aos encontrados em frutos popularmente consumidos no País, tais como a banana e a maçã (Andrade et al., 2012).

Além dos frutos, suas folhas e casca apresentam princípios medicinais utilizados na cultura popular para o tratamento de tuberculose (Pavan et al., 2009), também com atividade anti-inflamatória, antioxidante e com um crescente interesse em pesquisas para o combate do diabetes (Vinagre et al., 2010; Ferreira et al., 2013; Vieceli et al., 2014). Além disso, existem relatos de seu uso para doenças gastrointestinais, como a diarreia, e doenças do trato urinário, como a cistite (Cordeiro et al., 2010).

De uma forma extrativista, a guabirobeira é utilizada por moradores locais como fonte de madeira para lenha e para consumo dos frutos in natura ou na produção de geleias (Napoli et al., 2014; Godoy et al., 2015), sucos, doces e licores (Almeida, 1998).

Apesar do potencial da espécie, assim como a maioria das espécies frutíferas brasileiras, a guabirobeira continua negligenciada e não existem

programas de melhoramento ou esforços para a implementação de seu cultivo. Além disso, suas sementes, são recalcitrantes, dificultando a germinação e inviabilizando seu armazenamento. Esta característica, sem dúvida, é uma barreira à sua propagação, conforme ressaltam Melchior et al. (2006). Quanto à propagação vegetativa dessa espécie, poucos trabalhos são encontrados na literatura. Uma taxa de enraizamento de 25,5% foi observada para estacas obtidas a partir de material juvenil, em material proveniente de brotação de cepas, enquanto para fragmentos de tronco/inverno esta taxa resultou em até 44,4% das brotações (Teleginski, 2016). A alporquia também não foi eficiente para o enraizamento e produção de mudas de guabirobeira, conforme relataram Teleginski et al. (2018). Portanto, técnicas alternativas de propagação vegetativa devem ser estudadas para viabilizar a multiplicação de materiais superiores e a sua conservação *in vitro*.

A propagação de espécies lenhosas com interesses comerciais e/ou que apresentam dificuldades de reprodução em condições naturais, bem como a propagação vegetativa de genótipos com produção superior, podem também ser realizadas mediante técnicas da cultura de tecidos. Dentre elas, a micropropagação é definida como um conjunto de técnicas que visam a propagação vegetativa de plantas em larga escala, a partir do cultivo de tecidos ou órgãos vegetais sob condições controladas *in vitro* (George et al., 2008). Estudos

de micropropagação de espécies da família Myrtaceae embora escassos, demonstram que é possível a obtenção de plantas regeneradas e aclimatizadas, como no caso das espécies *Eugenia pyriformis* (Nascimento et al., 2008), *Acca sellowiana* (Ross; Grasso, 2010) e *Eugenia uniflora* (Silva et al., 2014). Para *C. xanthocarpa* não existem protocolos de micropropagação estabelecidos.

Este trabalho teve como objetivo estabelecer um protocolo eficiente de micropropagação de guabirobeira, utilizando a técnica de multiplicação de gemas axilares.

Equipamentos e material necessário

- Casa de vegetação.
- Capela de fluxo laminar.
- Balança.
- pHmetro.
- Autoclave.
- BOD ou sala climatizada.
- Pipetas.
- Beckers.
- Provetas.
- Tubos de ensaio.
- Frascos de vidro com 8,5 cm de altura e 5,5 cm de diâmetro.
- Placas de Petri esterilizadas.
- Pinças e bisturis esterilizados.
- Bandejas de plástico divididas em células de 3,5 cm x 3,5 cm.
- Vermiculita.
- Plantmax®.

Reagentes

- Sais e vitaminas do meio WPM (Anexo 1).
- Sacarose.
- Ágar.
- Benzil amino purina (BAP).
- Hipoclorito de sódio (NaOCl).
- 0,1% PPM®.
- Etanol 70%.
- Água destilada autoclavada.
- Ácido indol butírico (AIB)
- Inositol
- Tween-20
- Vermiculita

Preparo dos meios de cultura

Meio de germinação

- WPM.
- 0,1% PPM®.
- 30 g L⁻¹ de sacarose.
- 7 g L⁻¹ de ágar.

Meio de introdução

- Macro e micronutrientes do meio WPM (Lloyd; McCown, 1980).
- 30 g/L de sacarose.
- 0,1% PPM®.
- 6 g/L de ágar.
- Verter 10 mL do meio em tubos de ensaio e autoclavar antes do uso.

Meio de micropropagação

- Macro e microelementos e vitaminas do meio WPM (Anexo 1).
- 30 g L⁻¹ de sacarose.
- 0,1 g L⁻¹ de inositol.
- 2,2 µM Benzil amino purina (BAP) (Anexo 2).
- 0,1% PPM®.
- 7 g L⁻¹ de ágar.
- Frascos de vidro com tampa autoclavável.

Meio de enraizamento

- Macro e micronutrientes do meio WPM.
- 30 g L⁻¹ de sacarose.
- 0,1% de PPM®.
- 4,9 µM ácido indol butírico (AIB).
- 6 g L⁻¹ de ágar.

O pH dos meios de cultura foi ajustado em 5,8 com soluções de HCl ou NaOH 0,1 N, antes da adição do ágar e da autoclavagem. Os meios de micropropagação e enraizamento foram vertidos em frascos de vidro, cada um contendo 40 mL de meio, tampados com tampa plástica. Os frascos e tubos de ensaio foram autoclavados a 120 °C e 1 atm por 20 minutos, antes do uso.

Assepsia e germinação

Frutos maduros foram coletados e despolpados manualmente. Em capela

de fluxo laminar, as sementes foram desinfestadas mediante sua imersão em solução de etanol (70% v/v) por um minuto, seguido por imersão em solução de hipoclorito de sódio (5% de cloro ativo) adicionado de duas gotas de Tween-20, por dez minutos. Para eliminar os resíduos do NaOCl as sementes foram lavadas três vezes com água destilada esterilizada por autoclavagem.

Em seguida as sementes foram inoculadas em meio de cultura de germinação.

Inicialmente foi utilizado meio de cultura sem PPM para a germinação de sementes. No entanto, apesar da assepsia, ocorreram altas taxas de contaminação, principalmente por fungos.

O PPM na concentração indicada pelos fabricantes (0,1%) foi eficaz para prevenir as contaminações durante o estabelecimento das culturas assépticas.

Nos tratamentos contendo este biocida, não foram observadas quaisquer contaminações, seja por bactérias ou fungos, durante todo o período analisado.

Estudos anteriores relataram problemas na micropropagação de *Campomanesia xanthocarpa* devido a contaminações das culturas por bactéria endofítica resistente aos processos de desinfestação (Scutti; Zanette, 2000). Essa contaminação bacteriana não foi detectada em nenhum momento do cultivo neste trabalho. Contaminações por bactérias endofíticas são consideradas como um dos principais problemas do cultivo in vitro e já foram observadas em outras espécies de Myrtaceae, tal como

no araçá (*Psidium cattleianum*) (Freire et al., 2018).

Após a germinação das sementes, as plântulas permaneceram no mesmo tubo de ensaio até formarem, pelo menos, um par de folhas verdadeiras. Neste momento, segmentos nodais contendo duas gemas axilares foram cortados com auxílio de pinça e bisturi e utilizados na fase de micropropagação da espécie.

Micropropagação

Segmentos nodais de aproximadamente 1 cm e contendo duas gemas adventícias foram seccionados com auxílio de pinça e bisturi e colocados em meio de micropropagação. Foram colocados 4 segmentos por frasco em meio WPM (Lloyd; McCown, 1980), suplementado com BAP 2,2 μM . Após 30 dias, os brotos novos foram seccionados, separados do segmento nodal (explante inicial), subdivididos de forma a obter novos segmentos contendo duas gemas axilares, e subcultivados em meios frescos de mesma composição, a cada mês (Figura 1).

As culturas foram mantidas em sala de crescimento sob luz fluorescente de tipo branca fria, com densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (PPFD) de 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 26 $^{\circ}\text{C} \pm 2$ $^{\circ}\text{C}$.

A cada 30 dias foram avaliados a porcentagem de segmentos formando brotos, e o número médio de brotos novos formados por segmento nodal.

Fotos: Jean Santos Machado

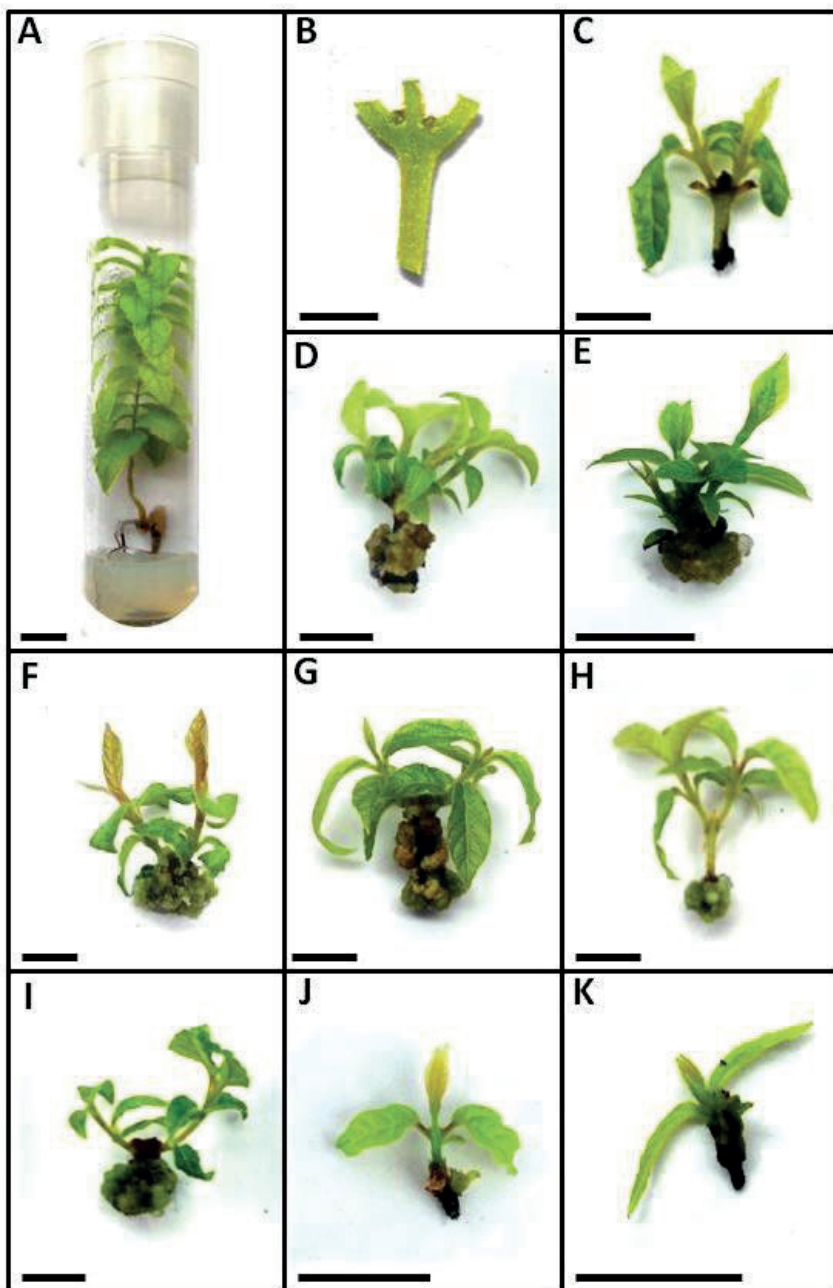


Figura 1. Multiplicação de gemas axilares em *Campomanesia xanthocarpa*. A: planta obtida de semente germinada in vitro; B: explante inicial contendo duas gemas axilares; C-K: brotação em meio WPM. Barras: 1 cm.

No final do primeiro subcultivo (30 dias), foram observadas brotações em 87% dos segmentos iniciais e o número de novas brotações foi 2,5 por segmento.

No segundo subcultivo (60 dias), a porcentagem de segmentos formando brotos foi 85% e o número de novas brotações foi 3,3.

O alongamento das brotações foi observado no próprio meio de micropropagação, não sendo necessária a utilização de meio específico para este fim, antes do enraizamento.

Pelos resultados obtidos, *Campomanesia xanthocarpa* não necessita de elevadas concentrações de nitrogênio no meio de cultura, pois houve maior desenvolvimento dos explantes quando cultivados em meio WPM, onde este nutriente encontra-se em menor concentração. Assim como ocorrido para *Campomanesia xanthocarpa*, para *Acca sellowiana* (Ross; Grasso, 2010) e *Eugenia pyriformis* (Nascimento et al., 2008), o meio de cultura mais adequado para a micropropagação foi o WPM.

A citocinina BAP tem sido a mais utilizada na multiplicação de gemas de diversas espécies florestais (Oliveira et al., 2013). BAP também foi a citocinina mais eficaz para outras mirtáceas nativas do Brasil, como *Campomanesia adamantium* (Rossato et al., 2015), *Eugenia pyriformis* (Nascimento et al., 2008), *Eugenia uniflora* (Silva et al., 2014) e *Psidium cattleianum* (Freire et al., 2018).

Em relação às concentrações de BAP, resultados semelhantes aos obtidos com este protocolo foram obtidos

para *Eugenia pyriformis*, para a qual foram observadas 4 novas brotações por segmento nodal, no cultivo inicial em meio contendo 4,4 μM de BAP (Nascimento et al., 2008) e em *Campomanesia adamantium* com número de novas brotações de 2 nesta mesma concentração do fitorregulador (Rossato et al., 2015). Com base em outros protocolos utilizados para diferentes espécies de Myrtaceae, observou-se que existe grande variação na resposta aos efeitos de BAP, na formação de novas brotações.

Enraizamento

Inicialmente as microestacas oriundas da micropropagação com aproximadamente 1 cm de altura foram colocadas no meio de enraizamento contendo macro e microelementos do meio de cultura WPM, PPM (0,1%) e 4,9 μM de AIB. As culturas foram mantidas nas condições descritas anteriormente, exceto na primeira semana de cultivo, quando elas ficaram no escuro.

A porcentagem de enraizamento das microestacas foi 32% após 30 dias, chegando a 53% após 60 dias. Foi observada necrose em 20% das brotações nesta segunda avaliação (Figura 2).

As primeiras raízes começaram a surgir aproximadamente em 20 dias e continuaram a aparecer durante o cultivo. Após 60 dias não foi observada formação de novas raízes e as formadas continuaram se desenvolvendo e

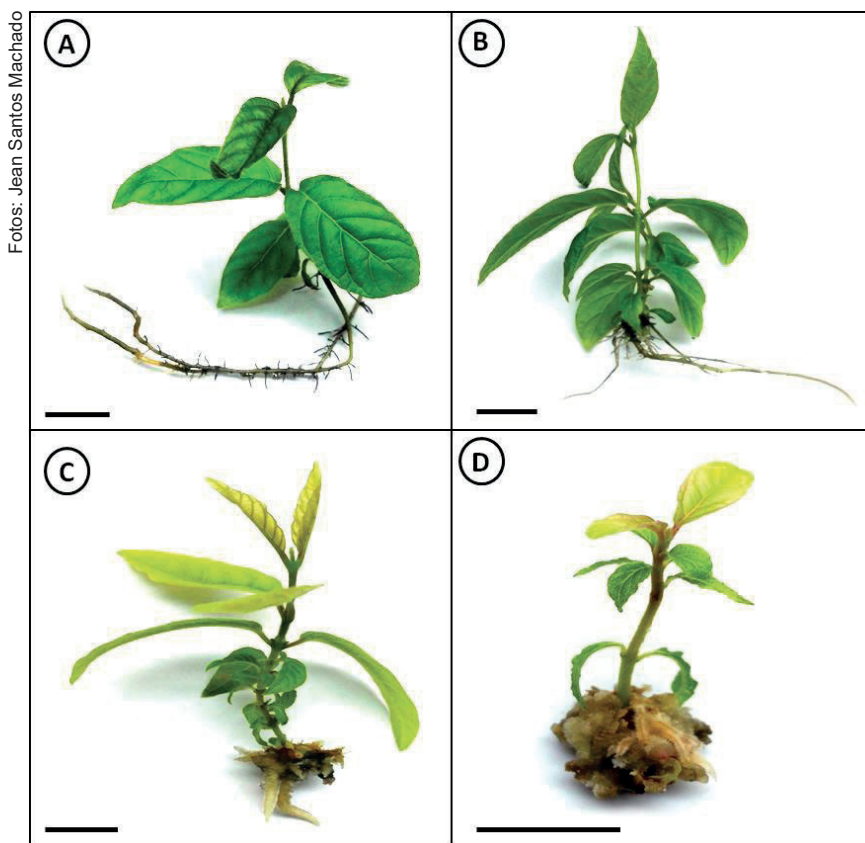


Figura 2. Enraizamento in vitro de microestacas de *Campomanesia xanthocarpa* cultivadas em meio WPM suplementado com AIB, após 60 dias.

crescendo normalmente. O número médio de raízes por explante após 30 dias foi 1,4 e 2,6 após 60 dias.

Concentrações relativamente baixas de AIB induziram o enraizamento em *Campomanesia xanthocarpa*, sem fitotoxicidade e nem calogênese.

A formação de raízes em explantes de *Campomanesia xanthocarpa* cultivados na ausência de reguladores vegetais também foi possível, assim como observada por outros autores para

guabirobeira (Scutti; Zanette, 2000), e outras espécies de mirtáceas, como *Acca sellowiana* (Oltamari et al., 2000), *Eugenia myrtifolia* (Blando et al., 2013) e *Eugenia pyriformis* (Nascimento et al., 2008). No entanto, a porcentagem de enraizamento observada em meio contendo AIB foi superior.

O enraizamento em meio de cultura sem reguladores vegetais pode ser explicado pelo efeito fisiológico das auxinas endógenas presente nos explantes, que

são capazes de induzir este processo. Nas plantas, a auxina é produzida nos ápices caulinares e foliares, transportada via polar pelo floema e, entre seus efeitos, estão o crescimento celular e o desenvolvimento de raízes (Taiz et al., 2017).

Em Myrtaceae, comumente o AIB é utilizado para promover formação de raízes adventícias em microestacas. No enraizamento de *Campomanesia xanthocarpa*, esta auxina foi a que promoveu maior porcentagem de formação de raízes e número médio de raízes, após 30 e 60 dias de cultivo. O mesmo efeito de AIB (4,9 μM) no enraizamento de *C. xanthocarpa* foi encontrado em *Eugenia involucra*, com 70% de enraizamento após 60 dias (Golle et al., 2012), em *Eugenia pyriformis*, com 60% após 40 dias (Nascimento et al., 2008) e em *Syzygium cordatum* com 70% após 30 dias (Dewir et al., 2011).

Concentrações maiores deste regulador foram utilizadas em *Acca sellowiana* (Oltamari et al., 2000) onde foi aplicado um tratamento pulso de 20 μM de AIB durante três dias, que resultou em 52% de enraizamento após 30 dias. Em *Psidium guajava* (Mishra et al., 2007) foi utilizado 49 μM de AIB e houve formação de raízes após 17 dias.

Transplântio e aclimatização de mudas

As plantas enraizadas foram retiradas do meio de enraizamento, tiveram

suas raízes lavadas em água corrente e foram, então, transplantadas para bandejas de plástico contendo substrato florestal Plantmax® em mistura com vermiculita Dimy, em uma proporção de 1:1 (v/v).

As plantas foram mantidas em casa de vegetação sob luz de lâmpadas de vapor de mercúrio com PPF de 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ com fotoperíodo de 16 horas, temperatura máxima de 22 °C dia e mínima de 18 °C noite e irrigação por meio de sistema automático com nebulização, por três minutos, a cada seis horas.

Para a aclimatização, as bandejas com as plantas foram cobertas por um filme de plástico PVC transparente com perfurações e regas feitas manualmente, todos os dias. Após este período, o plástico foi removido completamente, mantendo irrigação automática.

Todas as plantas sobreviveram durante os primeiros 15 dias após o transplântio para as caixas plásticas. Após 45 dias na mistura Plantmax com vermiculita foi observada uma porcentagem de 92% de plantas sobreviventes. O mesmo resultado foi observado 60 dias após o início da aclimatização. O fenótipo das plantas que sobreviveram após 60 dias de aclimatização era normal e as plantas vigorosas e clorofiladas (Figura 3).

A aclimatização em caixa plástica com abertura gradual foi eficiente para a sobrevivência das plântulas micropropagadas. Isto pode estar relacionado com o fato da caixa permitir controle de umidade e intensidade luminosa de

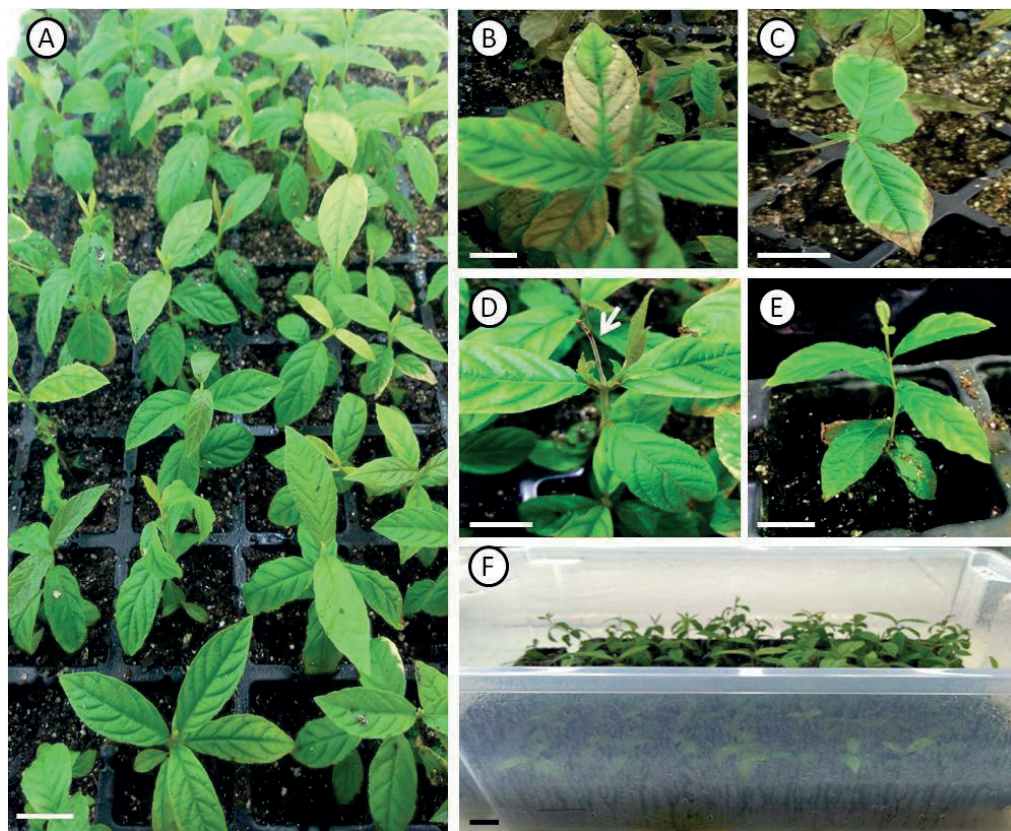


Figura 3. Aclimatização de plântulas micropropagadas de *Campomanesia xanthocarpa*. A) início do cultivo; B-D) sintomas de deficiência nutricional; seta: necrose apical; E) planta aclimatizada após 90 dias; F) cultivo dentro de caixa plástica; barras: 1,5 cm.

maneira uniforme para todas as mudas. Muitos trabalhos recomendam períodos mais prolongados de abertura da cobertura/caixa antes da remoção completa e total exposição das plântulas às novas condições de cultivo. Este período prolongado pode aumentar as taxas de sobrevivência, como foi observado para *Campomanesia xanthocarpa* e para *Eugenia pyriformis* com 85% de sobrevivência (Nascimento et al., 2008).

As perfurações/aberturas graduais fornecem, aos poucos, novas condições ambientais às mudas sem promover mudanças bruscas e altamente estressantes. Conseqüentemente, aumentam as taxas de sobrevivência destas plantas em relação às aclimatizadas diretamente em casa de vegetação (Pospisilová et al., 2007).

Da mesma forma, na aclimatização de *Syzygium alternifolium* (Khan et al.,

1999) e *Psidium guajava* (Mishra et al., 2007), as maiores taxas de sobrevivência (70% e 80%, respectivamente) foram obtidas nos tratamentos contendo misturas de substratos como solo com areia e fibra de côco.

Os substratos variam muito na sua composição e características. Uma mistura entre dois ou mais tende a ser ideal para o desenvolvimento das mudas, pois apresenta características diferentes específicas de cada um que, quando juntas, podem se complementar (Oliveira et al., 2013). A vermiculita apresenta maior porosidade, o que permite maior escoamento da água, no entanto não possui nutrientes minerais. Por outro lado, o substrato florestal comercial (Plantmax) tem menor porosidade, retém mais água e pode fornecer, de certa forma, nutrientes minerais. Uma combinação entre os dois pode ser mais vantajosa como foi aquela observada para a aclimatização de *Campomanesia xanthocarpa*.

Após a remoção da tampa da caixa ou do plástico PVC houve morte das mudas, no decorrer do tempo. Possivelmente, o principal fator que dificultou a sobrevivência das plantas foi a diferença da umidade relativa do ar entre o cultivo in vitro e a casa de vegetação. Os sintomas de estresse observados foram o murchamento das folhas e a estagnação no desenvolvimento das mudas, que não formaram novas folhas. Novas folhas desenvolvidas em condições ex vitro auxiliam no controle da perda de água pela transpiração e promovem aumento nas taxas de sobrevivência (Pospisilová et al.,

2007). Algumas plantas apresentaram sintomas de deficiência nutricional, como clorose internerval, ápice e borda foliar queimados e necrose apical. Estes sintomas estão relacionados com a deficiência em nutrientes minerais que são de extrema importância para o desenvolvimento vegetal. Eles surgem devido a distúrbios metabólicos em resposta ao suprimento ineficiente de determinado nutriente considerado essencial para as plantas (Taiz et al., 2017).

Uma alternativa para solucionar este problema de nutrição mineral e promover a sobrevivência de plantas saudáveis é adicionar uma solução nutritiva diluída aos substratos. De um modo geral, a aclimatização é conhecida como uma das etapas mais importantes e problemáticas da micropropagação, pois é nesta fase que as plantas micropropagadas devem se adaptar às novas condições ex vitro, para conseqüentemente sobreviverem no campo (Pospisilová et al., 2007).

Referências

- ALMEIDA, S. P. de. **Cerrado**: aproveitamento alimentar. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 188 p.
- ANDRADE, D. R. M.; HELM, C. V.; MAZZA, C. A.; MAZZA, M. C. M. Caracterização por composição nutricional da guabiroba. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: SBF, 2012.
- BLANDO, F.; ONLU, S.; COLELLA, G.; KONCZAK, I. Plant regeneration from immature

seeds of *Eugenia myrtifolia* Sims. **In vitro Cellular and Developmental Biology**: Plant, n. 49, p. 388-395, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-013-9502-3>.

CORDEIRO, C.; CORREA, M.; HELM, C. V.; PUCCI, P.; MAZZA, M. C.; MAZZA, C. A. Caracterização da composição química da guabiroba. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE BIOPROCESSOS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS, 4.; ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 10., 2010, Curitiba. **Anais**. Curitiba: UFPR, 2010.

DEWIR, Y. H.; SINGH, N.; MNGOMEZULU, S.; OMAR, A. M. K. Micropropagation and detection of important triterpenes in in vitro and field grown plants of *Syzygium cordatum*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 14, p. 3078-3083, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-013-9502-3>.

FERREIRA, I. C.; GUIMARÃES, A. G.; PAULA, C. A.; MICHEL, M. C. P.; GUIMARÃES, R. G.; REZENDE, S. A.; FILHO, J. D. S.; GUIMARÃES, D. A. S. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Campomanesia adamantium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, p. 100-108, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.10.037>.

FREIRE, G. C.; GARDIN, J. P. P.; BARATTO, S. C.; VIEIRA, R. L.; WERNER, S. S. Micropropagation's complete protocol of red araçá (*Psidium cattleianum*, Myrtaceae) from germinated seeds in vitro. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 2, p. 234-251, 2018. DOI: <https://doi.org/10.5539/jas.v10n2p234>.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; GEERT-JAN, K. **Plant propagation by tissue culture**. 3. ed. [S.l.]: The Background, 2008.

GODOY, R. S. B.; JESUS, A. M. F.; AZEREDO, H. M. C.; MAGALHÃES, H. C. R.; HELM, C. V.; MAZZA, C. A. S. **Geleia de guabiroba**: um produto de simples elaboração e boa aceitação. Colombo: Embrapa Florestas, 2015. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 355). Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1018983>>.

GOLLE, D. P.; REINIGER, L. R. S.; CURTI, A. R.; LÉON, E. A. B. Estabelecimento e desenvolvimento in vitro de *Eugenia involucra* DC.: influência do tipo de explante e do meio nutritivo. **Ciência Florestal**, n. 22, p. 207-214, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/198050985092>.

KHAN, V. S.; HAUSMAN, J. F.; RAO, K. R. Clonal multiplication of *Syzygium alternifolium* (Wight) Walp. through mature nodal segments. **Silvae Genética**, v. 48, n. 1, p. 45-50, 1999.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Proceedings of the International Plant Propagators' Society**, v. 30, p. 421-427, 1980.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 252 p.

MELCHIOR, S. J.; CUSTÓDIO, C. C.; MARQUES, T. A.; MACHADO NETO, N. B. Colheita e armazenamento de sementes de guabiroba (*Camponesia adamantium* Camb.-Myrtaceae) e implicações na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p. 141-150, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222006000300021>.

MISHRA, M.; CHANDRA, R.; PATI, R.; BAJPAI, A. Micropropagation of guava (*Psidium guava* L.). **Acta Horticulturae**, v. 735, p. 155-158, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1080/14620316.2003.11511692>.

NAPOLI, B.; ANDRADE, D. R. M.; HELM, C. V. Elaboração de geleia tradicional e light de guabiroba. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 23., 2014, Cuiabá. **Fruticultura**: oportunidades e desafios para o Brasil. [S.l.]: SBF, 2014. 5 p.

NAPOLI, B.; LAVORATO, M.; HELM, C. V. Determinação da composição físico-química de guabiroba, pitanga e araçá. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 12., 2013, Colombo. **Anais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2013. (Embrapa Florestas. Documentos, 253). Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/978878>>.

NASCIMENTO, A. C.; PAIVA, R.; ABBADE, C. L.; VARGAS, P. D.; SOARES, F. P. Micropropagação de uvaeira (*Eugenia pyriformis* Cambess.) efeitos do BAP e AIB. **Revista Verde**, v. 3, n. 2, p. 20-26, 2008.

OLIVEIRA, S. L.; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4336/2013.pfb.33.76.481>.

OLTRAMARI, A. C.; DAL VESCO, L. L.; PEDROTTI, E. L.; DUCROQUET, J. H. H.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Protocolo de micropropagação da goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 61-68, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782000000100010>.

PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F.; COELHO, R. G.; COUTINHO, I. D.; HONDA, N. K.; CARDOSO, C. A. L.; VILEGAS, W.; LEITE, S. R. A.; SATO, D. N. Evaluation of anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of *Campomanesia adamantium* (MYRTACEAE). **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1222-1226, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000500026>.

POSPISILOVÁ, J.; SINKOVÁ, H.; HASEL, D.; SEMORADOVÁ, S. Acclimatization of micropropagated plants to ex vitro conditions: effects of air humidity, irradiance, CO₂ concentration and abscisic acid: a review. **Biologia Plantarum**, v. 42, p. 481-497, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1002688208758>.

ROSSATO, M.; SCHUMACHER P. V.; NETTO, A. P. C.; SOUZA, G. C.; REIS, E. F.; STEIN, C. V. Multiplication and in vitro rooting of *Campomanesia adamantium* CAMB. **Plant Cell Culture and Micropropagation**, n. 2, v. 11, p. 70-77, 2015.

ROSS, S.; GRASSO, R. In vitro propagation of 'Guayabo del país' (*Acca sellowiana* (Berg.) Burret). **Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 83-87, 2010.

SCUTTI, M. B.; ZANETTE, F. Propagação vegetativa da guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) in vitro e por estaquia. **Scientia Agraria**, v. 1, n. 12, p. 75-82, 2000.

SILVA, P. R. D. da.; RISPOLI, R. G.; MINOZZO, M. M.; JOBIM, L. H.; JUNGES, M.; STEFENON, V. M. A regenerative route for *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) through in vitro germination and micropropagation. **Annals of Forest Research**, v. 57, n. 1, p. 39-45, 2014. DOI: <https://doi.org/10.15287/afr.2014.179>.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. *Myrtaceae*. In: FLORA do Brasil 2020 em construção. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, [2016]. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 29 jun. 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TELEGINSKI, F. **Propagação vegetativa e germinação de sementes de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg**. 2016. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

TELEGINSKI, F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S.; DEGENHARDT GOLDBACH, J.; TELEGINSKI, E. Resgate vegetativo de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. ex O. Berg por alporquia. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 2, p. 820-826, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/1980509832100>.

VIECELI, P. R. N.; BORGES, D. O.; KIRSTEN, K.; MALHEIROS, J.; VIECELI, E.; MELO, R. D.; TREVISAN, G.; SILVA, M. A.; BOCHI, G. V.; MORESCO, R. N.; KLAFKE, J. Z. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on inflammatory processes, oxidative stress, endothelial dysfunction and lipid biomarkers in hypercholesterolemic individuals. **Atherosclerosis**, n. 234, p. 85-92, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.02.010>.

VINAGRE, A. S.; RONNAU, A. O.; PEREIRA, S. F.; SILVEIRA, L. U.; WIILLAND, E. F.; SUYENAGA, E. S. Anti-diabetic effects of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg) leaf decoction. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 2, p. 169-177, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-82502010000200002>.

Anexo I

Composição do meio WPM (macro e microelementos e vitaminas)

Reagentes	Concentração final no meio de cultura (mg L ⁻¹)
NH ₄ NO ₃	400,00
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	556,00
MnSO ₄ .H ₂ O	22,30
K ₂ SO ₄	990,00
MnSO ₄ .H ₂ O	22,30
MgSO ₄ .7H ₂ O	370,00
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,25
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,60
CaCl ₂ .2H ₂ O	96,00
KH ₂ PO ₄	170,00
H ₃ BO ₃	6,20
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37,30
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,80
Tiamina	1,00
Glicina	2,00
Ácido nicotínico	0,50
Piridoxina	0,50

Anexo II

Preparo de soluções estoque de BAP e AIB

1. BAP

Preparar uma solução estoque de 10 mM.

Pesar 0,225 g de BAP e dissolver para um volume de 100 mL de água bidestilada

Não é necessário esterilizar por filtração.

Para 1 L de meio de cultura: Para obter a concentração final de 2,2 μ M, adicionar 0,22 mL da solução de 10 mM no meio de cultura, antes da autoclavagem.

2. AIB

Preparar uma solução estoque de 10 mM:

Pesar 0,203 g de AIB e dissolver para um volume de 100 mL de água bidestilada

Não é necessário esterilizar por filtração.

Para 1 L de meio de cultura: Para obter a concentração final de 4,9 μ M, adicionar 0,49 mL da solução de 10 mM no meio de cultura, antes da autoclavagem.

Exemplares desta edição
podem ser adquiridos na:

Embrapa Florestas

Estrada da Ribeira, km 111, Guaraituba,
Caixa Postal 319
83411-000, Colombo, PR, Brasil
Fone: (41) 3675-5600
www.embrapa.br/florestas
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição

Versão digital (2020)



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações
da Embrapa Florestas

Presidente

Patrícia Póvoa de Mattos

Vice-Presidente

José Elidney Pinto Júnior

Secretária-Executiva

Neide Makiko Furukawa

Membros

Cristiane Aparecida Fioravante Reis,

Krisle da Silva, Marilice Cordeiro Garrastazu,

Valderês Aparecida de Sousa, Anete Bonnet,

Álvaro Figueredo dos Santos,

Guilherme Schnell e Schühli,

Marcelo Francia Arco-Verde

Supervisão editorial/Revisão de texto

José Elidney Pinto Júnior

Normalização bibliográfica

Francisca Rasche

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Neide Makiko Furukawa

Fotos da capa:

Jean Santos Machado (esquerda)

Cristiane Vieira Helm (direita)