

**Micropropagação e Aclimatização de
Goiabeira 'Paluma'**



ISSN 1808-9968

Dezembro, 2010

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Semiárido
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 80

Micropropagação e Aclimatização de Goiabeira 'Paluma'

*Juliana Martins Ribeiro
José Mauro da Cunha e Castro
Geraldo Milanez de Resende
Débora Costa Bastos
Luiz Ronaldo Nali*

Embrapa Semiárido
Petrolina, PE
2010

Esta publicação está disponibilizada no endereço: www.cpsa.embrapa.br
Exemplares da mesma podem ser adquiridos na:

Embrapa Semiárido

BR 428, km 152, Zona Rural
Caixa Postal 23 56302-970 Petrolina, PE
Fone: (87) 3862-1711 Fax: (87) 3862-1744
sac@cpsa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Maria Auxiliadora Coêlho de Lima
Secretário-Executivo: Josir Laine Aparecida Veschi
Membros: Daniel Terao

Tony Jarbas Ferreira Cunha
Magna Soelma Beserra de Moura
Lúcia Helena Piedade Kiill
Marcos Brandão Braga
Gislene Feitosa Brito Gama
Mizael Félix da Silva Neto

Supervisor editorial: Sidinei Anunciação Silva
Revisor de texto: Sidinei Anunciação Silva
Normalização bibliográfica: Sidinei Anunciação Silva
Tratamento de ilustrações: Nivaldo Torres dos Santos
Foto(s) da capa: Juliana Martins Ribeiro
Editoração eletrônica: Nivaldo Torres dos Santos

1ª edição (2010): formato digital

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

É permitida a reprodução parcial do conteúdo desta publicação desde que citada a fonte.

CIP. Brasil. Catalogação na publicação.
Embrapa Semiárido

Micropropagação e aclimatização de goiabeira Paluma / Juliana Martins Ribeiro
[et al.]. – Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010.

27 p.: il. (Embrapa Semiárido. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 80).

ISSN 1808-9968.

1. Propagação de planta. 2. Muda. 3. *Psidium guajava*. I. Título.

CDD 634.421

© Embrapa 2010

Sumário

Resumo	4
Abstract.....	6
Introdução	7
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	11
Conclusões.....	23
Referências	23

Micropropagação e Aclimatização de Goiabeira 'Paluma'

Juliana Martins Ribeiro¹

José Mauro da Cunha e Castro²

Geraldo Milanez de Resende³

Débora Costa Bastos⁴

Luiz Ronaldo Nali⁵

Resumo

Em várias regiões do País, inclusive no Vale do São Francisco, o nematoide-das-galhas tem provocado perdas significativas na produção de goiaba. Neste contexto, a produção in vitro de goiabeira é uma alternativa para obtenção de mudas de qualidade sanitária. Com este estudo, objetivou-se otimizar protocolos de micropropagação e aclimatização para a cultivar Paluma. Foram testadas diferentes formulações de sais inorgânicos com diferentes concentrações de reguladores vegetais e carvão ativado. Para a aclimatização, foram testados três tipos de recipientes e três tipos de substratos. Os resultados demonstraram que para a multiplicação dos explantes, a adição de 4 mg L⁻¹ e 2 mg L⁻¹ BAP ao meio induziu maiores número e comprimento de brotos em plântulas de goiabeira, respectivamente. Quanto ao enraizamento, os resultados

¹Bióloga, D.Sc. em Produção Vegetal, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.
juliana.ribeiro@cpatsa.embrapa.br

²Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.
jose.mauro@cpatsa.embrapa.br

³Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Fitotecnia, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.
gmilanez@cpatsa.embrapa.br

⁴Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.
debora@cpatsa.embrapa.br

⁵Engenheiro-agrônomo, M.Sc. em Ciências Agrárias, Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA), Petrolina, PE.

revelaram que a formulação de sais WPM, sem carvão ativado e sem reguladores vegetais proporcionou a formação de um maior número de raízes. Entretanto, meios nutritivos adicionados de 1.000 mg L⁻¹ de carvão ativado e sem reguladores vegetais induziram a formação de raízes com maiores comprimentos em goiabeiras 'Paluma' cultivadas in vitro. Mudanças da cultivar estudada aclimatizadas em sacos plásticos e em substrato comercial apresentaram melhor desenvolvimento em altura, comprimento de raiz e número de folhas.

Termos para indexação: Regulador vegetal, meio nutritivo, cultura de tecidos vegetais, *Psidium guajava*, produção de mudas.

Micropropagation and acclimatization of guava 'Paluma'

Abstract

In the São Francisco Valley, Brazil, the nematode has caused significant losses in guava production. In this context, the in vitro production of guava is an alternative to obtaining quality seedlings. This study aimed to optimize protocols for micropropagation and acclimatization to the 'Paluma'. tested different formulations of inorganic salts with different concentrations of plant growth regulators and activated charcoal. For acclimatization, three different types of containers and three types of substrates. The results showed that for the multiplication of explants, the addition of 4 mg L⁻¹ and 2 mg L⁻¹ BAP to the medium induced a greater number and length of shoots in seedlings of guava, respectively. As for rooting, the results showed that the formulation of WPM salts, without activated charcoal and no growth regulators promoted the formation of a greater number of roots. However, nutrient media added 1,000 mg L⁻¹ of activated charcoal without growth regulators induce root formation with greater lengths guava in Paluma in vitro. Seedlings of cultivar studied acclimatized in plastic bags and in commercial substrate showed better development in height, root length and number of leaves.

Index terms: Growth regulators, nutritive medium, plant tissue culture, *Psidium guajava*, seedling production.

Introdução

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é uma das frutíferas com boa adaptação na região do Submédio do Vale do São Francisco, constituindo-se uma das principais culturas plantadas pelos pequenos produtores. Em várias regiões do País, inclusive no Vale do São Francisco, o nematoide das galhas (*Meloidogyne mayaguensis*) tem sido o principal responsável pela infecção do sistema radicular e morte de goiabeiras, resultando em perdas significativas na produção desta frutífera, refletindo negativamente na qualidade de vida de pequenos agricultores da região (CARNEIRO et al., 2001).

Estima-se que a área infestada por *Meloidogyne mayaguensis* nos perímetros irrigados dos estados da Bahia e de Pernambuco chegue a 5000 hectares e que o prejuízo direto sofrido pelos goiabicultores é de R\$ 108.289.900,00. A dispensa de mão-de-obra nestes perímetros foi de 3.650 trabalhadores. Além dessa perda direta, outros prejuízos podem ocorrer como replantio de pomares em áreas infestadas por desconhecimento do agente etiológico da doença (PEREIRA et. al., 2009).

Produtos químicos avaliados experimentalmente não têm apresentado resultados, no controle de *M. mayaguensis* (WILLERS, 1997). Não existem nematicidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para utilização na cultura da goiabeira e o potencial de disseminação desse fitopatógeno por meio de mudas contaminadas é muito elevado.

Uma das alternativas para a obtenção de mudas com alta qualidade genética e fitossanitária é a cultura de tecidos vegetais, técnica pela qual pode ser realizada a multiplicação de células ou tecidos vegetais sob condições controladas e em meio nutritivo, a partir de pequenos fragmentos de plantas, tais como: gemas axilares e apicais, fragmentos foliares, entre outras. Vantagens como a produção de mudas em larga escala, a limpeza clonal e a manutenção de espécies de interesse em bancos de germoplasma in vitro são os principais objetivos desta técnica (TEIXEIRA et al., 2006, 2008).

Na literatura são encontrados inúmeros protocolos com variações no que se refere ao tipo de meio nutritivo e tipo e concentrações de reguladores

vegetais, responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento de plântulas in vitro (AMIN; JAISWAL, 1987; RAMÍREZ; SALAZAR, 1997; OLTRAMARI et al., 2000; SIGH et al., 2001; LOH; RAO, 2003). Um bom exemplo que pode ser destacado é o trabalho de Joshee et al. (2004), que mostraram significativa variação nos protocolos para a micropropagação da goiabeira. Logo, pode-se supor que não seja aconselhável a utilização de um protocolo específico de uma determinada cultivar para outra, havendo a necessidade da otimização de protocolos efetivos para cada cultivar em particular.

Uma fase posterior ao processo de cultivo in vitro de plantas é a aclimatização; processo pelo qual as plantas produzidas em laboratório são transferidas para um ambiente com as condições climáticas mais próximas das naturais, havendo a passagem gradual da planta da condição in vitro para as condições ex vitro, de maneira a minimizar os impactos decorrentes da mudança brusca de ambiente (MOREIRA et al., 2006; PEREIRA et al., 2005). Entretanto, o processo de aclimatização representa uma etapa crítica na cultura de tecidos vegetais, podendo ser considerado como fator limitante no processo de micropropagação por causa da grande diferença entre as duas condições ambientais (SOUZA JÚNIOR et al., 2001; PEREIRA et al., 2005).

A transferência do ambiente protegido, estéril, com açúcares e umidade saturada, para ambiente não estéril e com reduzida umidade, pode ocasionar a perda de vigor, baixa taxa de crescimento, morte das mudas e período prolongado na obtenção de plantas completamente aclimatizadas (COUTO et al., 2003). Além de ser considerada uma etapa crítica, ocorrem variações entre os protocolos para a aclimatização de diferentes variedades da mesma espécie (AMIN; JAISWAL, 1987; MISHRA et al., 2007).

Entre as variáveis mais importantes que favorecem o desenvolvimento das mudas durante a aclimatização estão incluídos, entre outros, o tipo de substrato, o recipiente no qual as plantas serão cultivadas, a umidade relativa e a temperatura ambiental (SOUZA JÚNIOR et al., 2001). De acordo com Hoffmann et al. (1996), um bom substrato deve ser firme e denso o suficiente para dar sustentação até o enraizamento, não encolher ou expandir com a variação da umidade, reter água em quantidade adequada; e ser suficientemente poroso para permitir a drenagem da água e a aeração. Deve também estar livre de plantas invasoras, nematoides ou outros patógenos, não apresentar níveis excessivos de salinidade e permitir a esterilização por vapor.

Quanto aos recipientes para cultivo, segundo Cunha et al. (2002), maiores volumes de substrato nos recipientes apresentaram uma tendência à produção de mudas mais vigorosas e de melhor qualidade. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi estabelecer um protocolo adequado para a micropropagação e aclimatização de goiabeira, cultivar Paluma.

Material e Métodos

As sementes de goiaba extraídas dos frutos de árvores isoladas foram tratadas com calcário para retirada do excesso de polpa e lavadas em água corrente. No interior da capela de fluxo laminar, as sementes foram desinfestadas durante 15 minutos em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, adicionada de uma gota de Tween 20 para cada 10 mL da solução e enxaguadas três vezes de 5 minutos em água destilada autoclavada. Em seguida, foram inoculadas em meio nutritivo contendo sais inorgânicos do meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), vitaminas White (WHITE, 1943), 100 mg L⁻¹ de inositol, 10 g L⁻¹ de ágar e 10 g L⁻¹ de sacarose. Um mês após a inoculação das sementes no meio nutritivo, foram avaliadas as porcentagens de culturas contaminadas e de sementes germinadas.

O material vegetal utilizado para a realização deste experimento foram plântulas germinadas in vitro aos 30 dias após a inoculação das sementes conforme o protocolo citado no item anterior. As plantas foram mantidas em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura variando entre 23 °C e 27 °C e intensidade luminosa de 40 μmol m².

Para determinar a formulação de sais inorgânicos e a concentração de BAP (6-benzilaminopurina), responsáveis pela formação de brotos em maior número e comprimento, foram testadas seis concentrações de BAP (0 mg L⁻¹; 0,1 mg L⁻¹; 0,5 mg L⁻¹; 1 mg L⁻¹; 2 mg L⁻¹ e 4 mg L⁻¹) e as formulações de sais MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e WPM (Wood Plant Medium) (LLOYD; MCCOWN, 1980), sendo cada um dos tratamentos adicionado ao meio nutritivo contendo vitaminas White (WHITE, 1943), 100 mg L⁻¹ de inositol, 10 g L⁻¹ de ágar e 30 g L⁻¹ de sacarose. Sessenta dias após a inoculação das plântulas nos tratamentos citados, foram coletados os dados referentes ao número e comprimento médio dos brotos, bem como o número de plântulas contaminadas.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6×2 , sendo 6 concentrações de BAP e 2 tipos de meio (MS e WPM), descritos anteriormente, totalizando 12 tratamentos, com cinco repetições e a unidade experimental composta por quatro tubos de ensaio contendo um explante cada. As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância, teste de Tukey a 5% e regressão linear.

O material vegetal utilizado para a realização deste experimento foram plântulas de goiabeira germinadas in vitro aos 30 dias de inoculação in vitro.

Para determinar a formulação de sais inorgânicos, a concentração de carvão ativado e a concentração dos reguladores vegetais responsáveis pela formação de raízes em comprimento e número médio superiores, foram testadas duas formulações de sais inorgânicos (MS e WPM), três concentrações de carvão ativado (0 mg L^{-1} , 200 mg L^{-1} e 1000 mg L^{-1}) e cinco combinações com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) e ácido naftalenoacético (ANA) (0 mg L^{-1} ; $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ANA + 1 mg L^{-1} AIB; $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ AIB + 1 mg L^{-1} ANA; $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ AIB + $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ANA; 1 mg L^{-1} AIB + 1 mg L^{-1} ANA), sendo cada um dos tratamentos adicionado ao meio nutritivo contendo vitaminas White (WHITE, 1943), 100 mg L^{-1} de inositol, 10 g L^{-1} de agar e 30 g L^{-1} de sacarose.

Sessenta dias após a inoculação dos explantes nos tratamentos utilizados para a indução de raízes, avaliou-se o número e o comprimento médio das raízes, bem como o número de culturas contaminadas.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, esquema fatorial $2 \times 3 \times 5$, sendo duas formulações de sais inorgânicos, três concentrações de carvão ativado e cinco combinações com diferentes concentrações de AIB e ANA, conforme descrito acima, totalizando 30 tratamentos, com cinco repetições e a unidade experimental composta por quatro tubos de ensaio contendo um explante cada. Os dados foram submetidos à análise de variância e uma regressão polinomial foi realizada para a definição do melhor modelo para o ajuste das variáveis e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Foram utilizadas como plantas matrizes goiabeiras variedade Paluma, com 30 dias de cultivo, propagadas por sementes, cultivadas in vitro na sala de crescimento do Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Semiárido, sob fotoperíodo de 16h, temperatura variando entre 23 °C e 27 °C, intensidade luminosa de 40 $\mu\text{mol m}^2$, em meio nutritivo contendo sais inorgânicos segundo Murashige e Skoog (1962), vitaminas White (WHITE, 1943), 10 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de inositol, 1% de ágar e pH 5,7.

As plântulas foram retiradas dos frascos nos quais estavam sendo cultivadas, lavadas em água corrente para a retirada do excesso de ágar das raízes e submetidas a diferentes tratamentos. Os tratamentos consistiram de três tipos de recipientes - bandejas de isopor, com 72 células de 120 cm³, tubete com 5 cm de diâmetro x 13 cm de altura e saco de polietileno preto com 10 cm x 8 cm - e três tipos de substratos (substrato comercial*, vermiculita de grânulos médios e substrato comercial + vermiculita média (1:1 v/v). As plantas foram transferidas para viveiro (condições externas).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3 x 3, com nove tratamentos, quatro repetições e quatro plantas por parcela (16 plantas por tratamento), totalizando 144 plantas. As avaliações foram feitas 45 dias após a transferência das mudas, quantificando-se as seguintes variáveis: porcentagem de sobrevivência das mudas, comprimento da planta (cm), comprimento da raiz pivotante e número de folhas. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey com 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos na avaliação realizada aos 30 dias após a assepsia e inoculação das sementes em meio nutritivo mostraram que a porcentagem de sementes germinadas foi de 97% e apenas 0,7% das sementes se contaminaram. Estes dados foram satisfatórios quando comparados àqueles obtidos em trabalhos realizados por Nascimento et al. (2007), que obtiveram percentuais de 80% e 85% de germinação de sementes de *Parapiptadenia rigida* Benth (Brenan), após a desinfestação das mesmas em solução de hipoclorito de sódio nas concentrações de 2,5% durante 30 minutos e 5% durante 15 minutos, respectivamente; e por Couto et al. (2004), quando obtiveram 48% de germinação de sementes de mogno após a desinfestação das mesmas em solução de hipoclorito de sódio a 2,5% durante 30 minutos.

*Substrato composto por vermiculita, casca de pinus queimada, fibra de coco queimada e areia.

Em ambos os experimentos citados anteriormente, as maiores taxas de germinação obtidas (85% e 48%), foram inferiores àquelas observadas no presente trabalho (97%); além disso, as concentrações das soluções de hipoclorito de sódio que apresentaram melhores resultados para a desinfestação das sementes nos referidos experimentos terem sido de 5 a 10 vezes maiores do que aquela utilizada eficientemente para a desinfestação das sementes de goiaba nesta pesquisa.

Em relação à porcentagem de culturas contaminadas, Ali et al. (2003), desinfestaram sementes de goiaba em solução de hipoclorito de sódio a 0,525% (v/v), sendo esta um pouco superior àquela utilizada neste trabalho (0,5%). Entretanto, a porcentagem de culturas contaminadas obtidas pelos referidos autores foi de 100%, enquanto neste trabalho foi de apenas 0,7%. Tal resultado pode ter decorrido da não adição de um detergente na solução desinfestante. A utilização de um detergente, como, por exemplo, o Tween 20 na solução de desinfestação, aumenta a superfície de contato das sementes com o hipoclorito de sódio, garantindo assim uma maior eficácia do agente desinfestante no processo de desinfestação.

A respeito do número médio de brotos, observou-se efeito significativo apenas em relação às concentrações de BAP (Tabela 1).

Tabela 1. Número médio de brotos em função da concentração de BAP a das formulações de sais inorgânicos. Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, 2007.

Formulações de sais inorgânicos	Concentrações de BAP (mg L ⁻¹)					
	0	0,1	0,5	1	2	4
MS	0,98 c	2,1 a	2,25 a	2,38 a	1,95 b	1,95 b
WPM	1,13 b	2,05 ab	2,6 a	2,15 ab	2,9 a	2,15 ab

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

Quando os explantes foram levados ao meio para a multiplicação, o número de brotos obtidos, 60 dias após a inoculação, evidenciaram efeitos significativos apenas para concentrações de BAP. Verificou-se efeito quadrático ($Y = 0,9444 + 0,3831 - 0,046585X^2$, $R^2 = 0,90$), no qual estimou-se a concentração de 4,11 mg L⁻¹ de BAP como a que

proporcionou o maior número de brotos em plantas de goiabeira. Não foram observadas contaminações em nenhum dos tratamentos.

Com relação ao comprimento de brotos em 60 dias de cultivo, os resultados evidenciaram efeitos significativos isolados dos fatores de formulação de sais inorgânicos e concentrações de BAP. Maior comprimento de brotos foi obtido com a formulação de sais inorgânicos WPM (7,29 mm) comparativamente ao meio MS (3,88 mm) (Tabela 2).

Tabela 2. Comprimento médio dos brotos em função da concentração de BAP e das formulações de sais inorgânicos. Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, 2007.

Formulações de sais inorgânicos	Concentrações de BAP (mg L ⁻¹)					
	0	0,1	0,5	1	2	4
MS	1,49 b	5,52 a	5,1 a	4,58 a	4,12 a	2,43 b
WPM	10,26 a	7,527 ab	8,39 ab	7,21 ab	6,84 ab	3,77 b

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

Observou-se efeito quadrático ($Y = 4,4072 + 1,6926X - 0,313178X^2$, $R^2 = 0,96$), no qual estimou-se a concentração de 2,70 mg L⁻¹ de BAP como a que proporcionou o maior comprimento de brotos. Não foram observadas contaminações em nenhum dos tratamentos.

Utilizou-se o BAP como regulador de crescimento porque este pertencer à classe das citocininas, sendo as mesmas essenciais para a indução de brotos em plantas e por estarem diretamente ligadas ao processo de divisão celular (TAIZ; ZEIGER, 2004). Além dos trabalhos citados anteriormente, grande parte dos experimentos de micropropagação de goiabeira utiliza este regulador de crescimento, combinado ou não com outros reguladores, para a indução de brotos em explantes. Na pesquisa realizada por Khattak et al. (2003), observou-se que a concentração de 1 mg L⁻¹ de BAP adicionada ao meio de cultura induziu a formação de brotos em maior quantidade.

Resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo foram observados por Mishra et al. (2007), que constataram ser a concentração de 3 mg L⁻¹ de BAP adicionada ao meio nutritivo responsável pela indução de um maior número de brotos em goiabeiras cultivadas in vitro. Ainda no mesmo

trabalho, foi observado que a adição de 2 mg L⁻¹ ao meio nutritivo resultou em brotos com maiores comprimentos.

As pequenas variações nas concentrações de BAP observadas entre os experimentos de Mishra et al. (2007) e neste estudo, podem estar relacionadas com o fato do uso de diferentes fontes de explantes. Nesta pesquisa foram utilizadas plantas germinadas de sementes e os experimentos realizados por Mishra et al. (2007), utilizaram segmentos nodais. Segundo Loh e Rao (2003), explantes de várias origens respondem de diferentes formas quando inoculados em meios nutritivos. Outra explicação para as variações nas concentrações de BAP entre os experimentos de Mishra et al. (2007), e os deste trabalho pode ser atribuída à utilização por parte destes autores, da cultivar Allahabad Safeda como planta matriz, enquanto neste experimento utilizou-se a cultivar Paluma, pois, apesar de ambas as cultivares serem da espécie *Psidium guajava*, experimentos realizados por Joshee et al. (2004) constataram que diferentes genótipos de goiabeira exigem protocolos específicos para sua micropropagação.

Para os testes de enraizamento de goiabeira in vitro, além da análise de outros fatores envolvidos neste evento como a formulação de sais inorgânicos e concentração de carvão ativado, foram testadas diferentes concentrações de AIB e ANA. Escolheu-se os referidos reguladores por fazerem parte da classe das auxinas, sendo as mesmas responsáveis, entre outras atividades, pelo desenvolvimento do sistema radicular das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Com relação ao número médio de raízes, constatou-se efeitos significativos para tipo de sais inorgânicos, concentração de carvão ativado e interação entre estes fatores e não foi observado efeito para as concentrações de AIB e ANA e suas interações (Tabela 3).

Tabela 3. Número médio de raízes em função da concentração de carvão ativado e das formulações de sais inorgânicos. Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, 2007.

Formulações de sais inorgânicos	Carvão ativado (mg L ⁻¹)			Média geral
	0	200	1000	
WPM	3,30 a A	2,24 a B	1,56 a B	2,33 a
MS	1,11 b A	1,41 b A	1,10 a A	1,21 b
Média geral	2,00 A	1,81 AB	1,34 B	---

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os dados observados na Tabela 3, evidenciaram a formulação de sais inorgânicos WPM sem adição de carvão ativado como sendo responsável pela indução de raízes em maiores números. Não houve efeito das concentrações dos reguladores vegetais testadas nos tratamentos, podendo-se afirmar que os meios nutritivos com a formulação de sais inorgânicos WPM, sem a adição de reguladores vegetais e carvão ativado induziram raízes em maiores números em plântulas de goiabeira 'Paluma' cultivadas in vitro durante 60 dias.

O maior número de raízes observado com a utilização da formulação de sais inorgânicos WPM, deve-se ao fato desta possuir 1/4 das concentrações de NO₃⁻ e NH₄⁺ em comparação ao meio MS, além do fato de conter mais potássio e um alto nível de íons sulfato (VILLA et al., 2006). De acordo com experimentos realizados pelos criadores da formulação de sais WPM (LLOYD; MCCOWN, 1980), tecidos de espécies lenhosas se desenvolvem melhor em meio de cultura com baixa concentração de sais.

Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados por Sigh et al. (2001), que observaram ser a formulação de sais WPM a responsável por uma melhor formação e desenvolvimento de raízes em goiabeiras (*Psidium guajava* L.) cultivadas in vitro. Da mesma forma, Oltramari et al. (2000), obtiveram melhores resultados referentes ao enraizamento de goiabeira serrana quando cultivaram as mesmas em meio nutritivo com formulação de sais inorgânicos WPM.

Os resultados obtidos para o comprimento médio das raízes evidenciaram efeitos significativos das interações entre tipo de sais inorgânicos e concentração de carvão ativado e reguladores vegetais, e concentração de carvão ativado e reguladores vegetais (Tabelas 4).

Tabela 4. Comprimento médio de raízes (mm) em função das formulações de sais inorgânicos e da concentração de carvão ativado. Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, 2007.

Formulações de sais inorgânicos	Carvão ativado (mg L ⁻¹)			Média geral
	0	200	1.000	
WPM	14,40 a B	14,82 b B	24,29 a A	18,94 a
MS	11,61 a C	22,11 a A	23,11 a A	17,83 a
Média geral	13,00 C	18,46 B	23,70 A	---

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

De acordo com a Tabela 4, observou-se não haver efeito da formulação de sais inorgânicos sobre o comprimento das raízes. Entretanto, a concentração de 1.000 mg L⁻¹ de carvão ativado adicionada ao meio de cultura resultou em raízes com maiores comprimentos médios.

O maior comprimento das raízes observado com a adição de carvão ativado ao meio nutritivo pode ser explicado pelo fato de este elemento possuir a propriedade de adsorver substâncias presentes no meio nutritivo ou compostos fenólicos liberados pelos explantes que inibem o enraizamento. Fisicamente, o carvão ativado simula a condição de escuro, na qual as raízes normalmente se desenvolvem melhor por meio da redução da quantidade de luz que chega na região de formação das mesmas (CORRÊA et al., 2003).

O estímulo no desenvolvimento das raízes após a adição do carvão ativado no meio nutritivo também foi observado por Ribeiro et al. (2000), que constataram que a presença deste composto nos meios nutritivos estimulou o crescimento do sistema radicular de embriões de citros. Da mesma forma, Costa et al. (2006), observaram que a adição de carvão ativado ao meio de cultura aumentou o vigor e o número de raízes em bananeiras cultivadas in vitro. Como neste trabalho, Amin e Jaiswal (1987), observaram um melhor desenvolvimento de raízes em goiabeiras 'Banaras Local' quando cultivaram as mesmas em meio nutritivo com a adição de 1.000 mg L⁻¹ de carvão ativado.

De acordo com a Tabela 5, observou-se que os meios nutritivos, independentemente da sua formulação de sais inorgânicos, sem a adição de reguladores vegetais resultaram em raízes com maiores comprimentos. Levando-se em consideração os dados de enraizamento das Tabelas 3 e 4, sugere-se a utilização de meios nutritivos adicionados de 1.000 mg L⁻¹ de carvão ativado e sem a adição de reguladores vegetais para a obtenção de goiabeiras com maiores comprimentos médios de raízes aos 2 meses de cultivo in vitro.

Tabela 5. Comprimento médio de raízes (mm) em função das formulações de sais inorgânicos e reguladores vegetais (mg L⁻¹). Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, 2007.

Formulações de sais inorgânicos	Reguladores vegetais (mg L ⁻¹)				
	0	0,5 ANA + 1,0 AIB	0,5 AIB + 1,0 ANA	0,5 AIB + 5,0 ANA	1,0 AIB + 1,0 ANA
WPM	28,72 a A	21,07 a AB	14,41 a B	12,27 b B	12,69 a B
MS	35,87 a A	21,77 a B	6,01 b C	22,36 a B	8,71 a C
Média geral	32,30 A	21,42 B	10,21 C	17,32 BC	10,70 C

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Na Tabela 6 observou-se que os maiores valores referentes ao comprimento médio das raízes foram obtidos nas interações de 200 mg L⁻¹ de carvão ativado com 0 mg L⁻¹ de reguladores vegetais e na concentração de 1.000 mg L⁻¹ de carvão ativado com 0,5 mg L⁻¹ de ANA + 1 mg L⁻¹ de AIB. Entretanto, baseado nos dados observados nas Tabelas 4 e 5, que apresentaram os meios nutritivos adicionados de 1.000 mg L⁻¹ de carvão ativado e sem reguladores vegetais como sendo responsáveis pela formação de raízes com maiores comprimentos médios, e nas informações da literatura discutidos anteriormente, sugere-se a utilização de meios nutritivos adicionados de 1.000 mg L⁻¹ de carvão ativado e sem reguladores vegetais para a obtenção de goiabeira (Paluma) com maiores comprimentos médios de raízes em 2 meses de cultivo in vitro.

Tabela 6. Comprimento de raízes (mm) em goiabeiras em função da concentração de carvão ativado e reguladores vegetais (mg L^{-1}). Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, 2007.

Carvão ativado (mg L^{-1})	Reguladores vegetais (mg L^{-1})				
	0	0,5 ANA + 1 AIB	0,5 AIB + 1 ANA	0,5 AIB + 5 ANA	1 AIB + 1 ANA
0	34,94 a A	8,89 b B	5,21 b B	7,69 b B	8,29 b A
200	36,72 a AB	19,22 b B	7,81 b AB	19,29 b A	9,29 b A
1000	25,24 ab B	36,14a A	17,63 b A	24,97ab A	14,55 b A

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Nos experimentos de aclimatização, observou-se que as goiabeiras cultivadas em sacos plásticos com o substrato comercial apresentaram melhor crescimento e desenvolvimento em comprimento total da planta, comprimento de raízes e número de folhas quando comparadas com os demais tratamentos testados.

De maneira geral, houve uma variação entre o adotado na presente pesquisa e aqueles realizados por outros autores. Amin e Jaiswal (1987), conseguiram 90% de sucesso na aclimatização de goiabeiras quando transferiram as mesmas para potes tampados contendo solo não estéril e composto, mantiveram os potes com as plantas em sala de crescimento com temperatura, iluminação e umidade controladas cerca de duas semanas e, finalmente, transferiram-nas para potes maiores para que pudesse haver uma aclimatização gradual para as condições ambientais naturais. Mishra et al. (2007), realizaram a aclimatização de goiabeiras multiplicadas *in vitro* transferindo as plantas para garrafas de 450 mL contendo solo autoclavado, areia e FYM (Farm Yard Manure), bagaço de coco, vermiculita, 1/2 de sais inorgânicos de MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e 1 mg L^{-1} de paclobutrazol. As garrafas foram incubadas em ambiente com temperatura, umidade e iluminação controladas e, logo após, foram abertas gradualmente sendo as plantas posteriormente transferidas para potes abertos.

Os resultados obtidos na presente pesquisa se apresentaram satisfatórios em relação aos observados pelos autores citados anteriormente, considerando-se que o percentual de plântulas sobreviventes foi de 100% em todos os tratamentos, após a aclimatização nos diferentes tratamentos, 45 dias após a retirada das plantas das condições *in vitro*. Além disso, nesta pesquisa não foi realizada uma passagem prévia das plantas pela sala de crescimento ou a utilização de solo estéril, tendo sido as mesmas transferidas diretamente do laboratório para o viveiro (condições externas).

Os substratos e os recipientes utilizados interferiram de forma diferenciada nas variáveis avaliadas, havendo interação significativa entre os mesmos. A Tabela 7 mostra os dados referentes ao comprimento das plantas, comprimento das raízes e número de folhas por planta em função dos diferentes tratamentos aplicados.

Tabela 7. Médias do comprimento das plantas (CP), comprimento da raiz (CR) e número de folhas por planta (NF) de mudas de goiabeira 'Paluma', em função dos diferentes tipos de recipientes e tipos de substratos. Embrapa Semiárido, Petrolina - PE, 2008.

Tratamentos	CP (cm)*	CR (cm)	NF
1	5,03 c	8,84 e	12,25 abc
2	4,33 cd	9,98 e	11,06 bcd
3	4,72 cd	9,63 e	9,82 cd
4	5,52 c	12,47 de	10,88 cd
5	3,58 cd	15,11 cd	9,31 d
6	5,13 c	17,29 bc	10,69 cd
7	11,14 a	23,83 a	14,82 a
8	5,67 c	19,85 ab	9,94 cd
9	9,10 b	22,41 a	13,44 ab
CV (%)	9,91	12,63	9,57

As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 1) Bandeja + substrato comercial (P); 2) Bandeja + vermiculita (V); 3) Bandeja + PV; 4) Tubete + P; 5) Tubete + V; 6) Tubete + PV; 7) Saco Plástico + P; 8) Saco Plástico + V e 9) Saco Plástico + PV.

Para o comprimento das plantas, verificou-se que as mudas transferidas para sacos plásticos contendo substrato comercial apresentaram melhores resultados (11,14 cm), em relação aos demais tipos de recipientes e substratos. Isso provavelmente ocorreu pelo fato de o saco plástico ter uma maior área e volume de substrato em relação ao tubete e a bandeja, favorecendo o maior crescimento e desenvolvimento das mudas de goiaba. Resultados semelhantes foram obtidos por Hoffmann (1996), na aclimatização do porta-enxerto de macieira Marubakaido com o uso do substrato comercial.

Da mesma maneira, em relação ao comprimento da raiz (23,83 cm), observou-se que os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou saco plástico e substrato comercial. Isso, também, provavelmente ocorreu por causa do mesmo fato exposto anteriormente, como ocorrido na variável altura das plantas. Souza Júnior et al. (2001), em estudos para testar vários recipientes para aclimatização de mudas de abacaxizeiro, verificaram que, quando se usou o saco plástico (SP), observou-se uma melhor arquitetura do sistema radicular, independentemente do substrato utilizado. Isto talvez possa ser atribuído ao formato do saco plástico que possibilita uma distribuição mais uniforme das raízes à medida que emergem e se desenvolvem. Os recipientes, além de sustentarem o sistema substrato-planta, influenciam no processo de aclimatização, pois, caso não sejam adequados, poderão ocasionar um crescimento radicular em espiral que continuará na fase de campo (SILVA et al., 1995). Por consequência, há um baixo desenvolvimento e rendimento da cultura.

Para o número de folhas, os melhores resultados foram verificados nas mudas transferidas para sacos plástico e substrato comercial (14,82), sendo semelhante aos resultados observados nas variáveis altura da planta e comprimento da raiz. O número de folhas é uma característica importante, e, possivelmente, mudas com maior número de folhas têm maior índice de pegamento no campo, pois as folhas são as estruturas responsáveis pela captação de energia solar e produção de matéria orgânica através da fotossíntese (MOREIRA et al., 2006).

O número de folhas/planta, totalmente formadas e desenvolvidas em condições de casa de vegetação e telado, é outra variável importante, pois tem influência sobre outras variáveis de crescimento e desenvolvimento, tais como a massa fresca e seca da plântula. O crescimento de uma plântula pode ser medido de várias maneiras e, em alguns casos, além do comprimento da plântula outras informações são necessárias como, por exemplo, o número e o tamanho de folhas. Conforme exposto anteriormente,

as folhas são os principais órgãos vegetais responsáveis pela captação de energia solar e produção de matéria orgânica através da fotossíntese (MOREIRA et al., 2006), e este processo, por sua vez, é responsável pela formação de carboidratos, que constituem 60% ou mais da matéria seca vegetal. Os carboidratos produzidos pela assimilação do CO₂ suprem as necessidades dos órgãos vegetais, quando serão consumidos (zonas de crescimento) ou estocados (sementes, frutos e tecidos de deposição) (LARCHER, 2000).

A Figura 1 mostra o padrão de desenvolvimento de goiabeiras em tubetes contendo diferentes tipos de substratos.

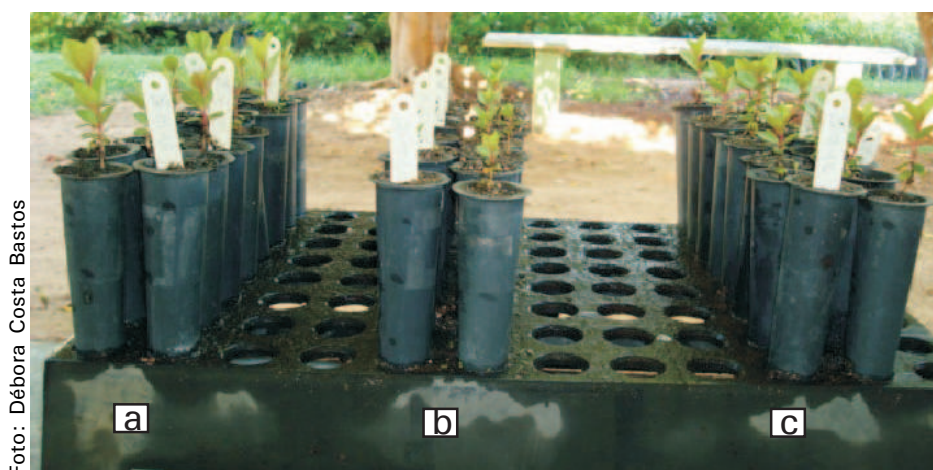


Figura 1. Goiabeiras desenvolvidas em tubetes contendo diferentes tipos de substrato: a) substrato comercial, b) vermiculita e c) substrato comercial + vermiculita.

A Figura 2 mostra o padrão de desenvolvimento de goiabeiras em bandeja de isopor contendo diferentes tipos de substratos.

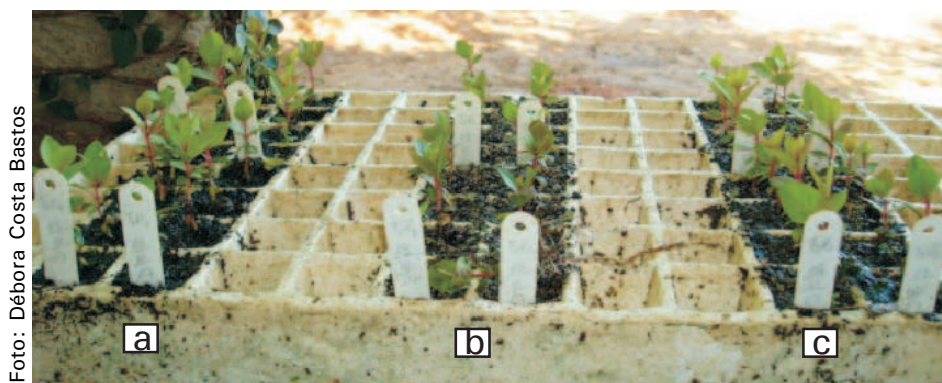


Figura 2. Goiabeiras desenvolvidas em bandejas de isopor contendo diferentes tipos de substrato: a) substrato comercial, b) vermiculita e c) substrato comercial + vermiculita.

A Figura 3 mostra o padrão de desenvolvimento de goiabeiras em sacos plásticos contendo os diferentes tipos de substratos.



Figura 3. Goiabeiras desenvolvidas em sacos plásticos contendo diferentes tipos de substrato: a) substrato comercial + vermiculita, b) substrato comercial e c) vermiculita.

Com base na observação das Figuras 1, 2 e 3 e reafirmando os dados da Tabela 7 discutidos anteriormente, pode-se afirmar que, quanto ao comprimento total das plantas, aquelas cultivadas com substrato comercial e em sacos plásticos apresentaram-se visualmente maiores do que as desenvolvidas nos outros tipos de substrato e recipientes analisados.

Conclusões

- A utilização de solução de hipoclorito de sódio a 0,5% adicionada de Tween 20 é eficiente no processo de desinfestação de sementes para cultivo in vitro de goiabeira.
- A adição de 4,11 mg L⁻¹ e 2,70 mg L⁻¹ de BAP ao meio nutritivo induz um maior número e comprimento médio de brotos em plântulas de goiabeira, respectivamente.
- A formulação de sais inorgânicos WPM, sem carvão ativado e sem reguladores vegetais, induzem a formação de um maior número de raízes em goiabeiras 'Paluma' cultivadas in vitro.
- Meios nutritivos adicionados de 1.000 mg L⁻¹ de carvão ativado e sem reguladores vegetais induzem a formação de raízes com maiores comprimentos em goiabeiras 'Paluma' cultivadas in vitro.
- Mudanças de goiabeira 'Paluma' aclimatizadas em sacos plásticos e no substrato comercial apresentam melhor crescimento e desenvolvimento em comprimento total da planta, comprimento de raiz e número de folhas.

Referências

ALI, N.; MULWA, R. M. S.; NORTON, M. A.; SKIRVIN, R. M. Micropropagation of guava (*Psidium guajava* L.). **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Ashford, v. 78, n. 5, p. 739-741, 2003.

AMIN, M. N.; JAISWAL, V. S. Rapid clonal propagation of guava through in vitro shoot proliferation on nodal explants of mature trees. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, [Heidelberg], v. 9, p. 235-243, 1987.

- CARNEIRO, R. M. D. G.; MOREIRA, W. A.; ALMEIDA, M. R. A.; GOMES, A. C. M. M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 25, p. 223-228, 2001.
- CORRÊA, R. M.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; REIS, E. S.; SOUZA, A. V. Potencial do carvão ativado, filtro amarelo e interação fotoperíodo/ temperatura na formação de raízes tuberosas de batata-doce in vitro. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 33, n. 3, p. 423-430, 2003.
- COSTA, F. H. S.; PEREIRA, J. E. S.; PEREIRA, M. A. A.; OLIVEIRA, J. P. Efeito da interação entre carvão ativado e N6-benzilaminopurina a propagação in vitro de bananeira, cv. Grande Naine (AAA). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 280-283, 2006.
- COUTO, M.; WAGNER JÚNIOR, A.; QUEZADA, A. C. Efeito de diferentes substratos durante a aclimatização de plantas micropropagadas do porta-enxerto mirabolano 29C (*Prunus cerasifera* EHRH.) em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 2, p. 125-128, 2003.
- COUTO, J. M. F.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, A. L.; FONSECA, E. P. Desinfestação e germinação in vitro de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 28, n. 5, p. 633-642, 2004.
- CUNHA, R. L.; SOUZA, C. A. S.; ANDRADE NETO, A. de; MELO, B. de; CORRÊA, J. F. Avaliação de substratos e tamanhos de recipientes na formação de mudas de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) em tubetes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 7-12, 2002.
- HOFFMANN, A.; CHALFUN, N. N. J.; ANTUNES, L. E. C.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; SILVA, C. R. R. **Fruticultura comercial: propagação de plantas frutíferas**. Lavras: UFLA: FAEPE, 1996. 319 p.
- JOSHEE, N.; MUTUA, M.; YADAV, A. K.; ZEE, F. In vitro shoot bud induction and plantlet regeneration in guava as influenced by genotype. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 632, p. 279-285, 2004.
- KHATTAK, G. S. S.; MOHAMMAD, T.; SHAH, S. A.; KHAN, A. J.; ALI, N. In vitro mutagenesis in guava (*Psidium guajava* L.). **Journal of Botany**, New York, v. 35, n. 5, p.825-828, 2003.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMA, 2000. 531 p.
- LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia* by use of shoot-tip culture. **Proceedings International Plant Propagator's Society**, [Asheville], v. 30, p. 421-427, 1980.
- LOH, C. S.; RAO, A. N. Clonal propagation of guava (*Psidium guajava* L.) from seedlings and grafted plants and adventitious shoots formation in vitro. **Scientia Horticulturae**, [Amsterdam], v. 39, n.1, p. 31-39, 2003.

- MIRSHA, M.; CHANDRA, R.; PATI, R.; BAJPAI, A. Micropropagation of guava (*Psidium guajava* L.). **Acta Horticulturae**, [Amsterdam], v. 735, p.155-158, 2007.
- MOREIRA, M. A.; CARVALHO, J. G.; PASQUAL, M.; FRÁGUAS, C. B.; SILVA, A. B. Efeito de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola, **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 875-879, 2006.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- NASCIMENTO, P. K. V.; FRANCO, E. T.; FRASSETTO, E. G. Desinfestação e germinação in vitro de sementes de *Parapiptadenia rigida* Benth (Brenan). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 141-143, 2007. Suplemento 2.
- OLTAMARI, A. C.; VESCO, L. L. D.; PEDROTTI, E. L.; DUCROQUET, J. P. H. J.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Protocolo de micropropagação de goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 30, n. 1, p. 61-68, 2000.
- PEREIRA, M. C. T.; NIETSCH, S.; FRANÇA, A. C.; NUNES, C. F.; LIMA, C.; GONÇALVES, V. D.; SALLES, B. P.; MORAIS, D. L. B.; KOBAYASHI, M. K. aclimatização de mudas micropropagadas de bananeira sob diferentes condições de luminosidade. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 238-240, 2005.
- PEREIRA, F. O. M.; SOUZA, R. M.; SOUZA, P. M.; DOLINSKI, C.; SANTOS, G. K. Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 33., n. 2, p. 176-181, 2009.
- RAMIREZ, M.; SALAZAR, E. Establecimiento in vitro de segmentos nodales de guayabo (*Psidium guajava* L.). **Revista de la Facultad de Agronomía**, [Maracaibo], v. 14, p. 497-506, 1997.
- RIBEIRO, V. G.; Sanábio, D; Souza, C. N. de; Lopes, P. S. N.; Bocard, M. R.; Pasqual, M. Efeitos de ácido giberélico e carvão ativado no cultivo in vitro de *Citrus limonia* Osbeck x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 35, p. 27-30, 2000.
- SIGH, S. K., SIGH, S. P., SHARMA, H. C. In vitro clonal propagation of guava (*Psidium guajava* L.) from field-grown mature plants. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, New York, v. 7, n. 1, p. 33-138, 2001.
- SIGH, S. K.; MEGHWAL, P. R.; SHARMA, H. C.; SIGH, S. P. Direct shoot organogenesis on hypocotyl explants from in vitro germinated seedlings of *Psidium guajava* L. cv. Allahabad Safeda. **Scientia Horticulturae**, [Amsterdam], v. 95, n. 3, p. 213-221, 2002.

SILVA, A. T. da; PASQUAL, M.; ISHIDA, J. S.; ANTUNES, L. E. C. Aclimação de plantas provenientes da cultura in vitro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, n. 1, p. 48-53, 1995.

SOUZA JÚNIOR, E. E.; BARBOZA, S. B. S. C.; SOUZA, L. A. C. Efeitos de substratos e recipientes na aclimação de plântulas de abacaxizeiro *Ananas comosus* (L.) Merrill] cv. Pérola. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 31, n. 2, p. 147-151, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**, 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004, 719 p.

TEIXEIRA, S. L.; RIBEIRO, J. M.; TEIXEIRA, M. T. Influence of NaClO on nutrient medium sterilization and on pineapple (*Ananas comosus* cv Smooth cayenne) behavior. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Holanda, v. 86, n. 3, p. 375-378, 2006.

TEIXEIRA, S. L.; RIBEIRO, J. M.; TEIXEIRA, M. T. Utilização de hipoclorito de sódio na esterilização de meio de cultura para multiplicação in vitro de *Eucalyptus pellita*. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 8, n. 2, p. 185-191, 2008.

VILLA, F.; FRÁGUAS, C. B.; DUTRA, L. F.; PIO, L. A. S.; PASQUAL, M. Multiplicação in vitro de amoreira-preta cultivar Brazos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 2, p. 266-270, 2006.

WHITE, P. R. Nutrient deficiency studies and an improved inorganic nutrient medium for cultivation of excised tomato roots. **Growth**, Lakeland, v. 7, p. 53-65, 1943.

WILLERS, P. The nematode problem of guava is controlled by the nematicide cadusafos. **Inigtings Bulletin Institut vir Tropiese en Subtrpiese Gewasse**, [S.l.], v. 293, p. 10-12, 1997.

Embrapa

Semiárido

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



CGPE 9045