Revista OURICURI

DOI: https://doi.org/10.59360/ouricuri.ro.v15i2

Cultivo *in vitro* do murici-pitanga (*Byrsonima gardneriana* A. Juss.) Malpighiaceae

Michele Lima de Souza **Santos**[1]; Igo Carvalho do **Santos**[2]; Jennifer Lima de **Souza**[3]; Janderson de Souza **Teixeira**[4]; Ellie José **Pereira**[5]; Francyane Tavares **Braga**[6*]

[1] Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal – UNEB.
[2] Biólogo, Mestrando pelo Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal – UNEB.
[3] Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado da Bahia – UNEB.
[4] Graduando em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado da Bahia – UNEB.
[5] Mestre em Biodiversidade Vegetal – UNEB e doutorando pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina – UEL.
[6] Docente da Universidade do Estado da Bahia – UNEB
*Contato: ftbraga@uneb.br ORCID: 0000-0002-6088-443X

DOI: 10.59360/ouricuri.vol15.i2.a24407
Recebido: 30. 06. 2025 Aceito: 15. 07. 2025

RESUMO

O murici-pitanga é um arbusto com grande importância medicinal e alimentícia, porém, o extrativismo e problemas de cultivo dificultam sua propagação. E o cultivo *in vitro* fornece condições que otimizam sua propagação. Objetivou-se avaliar o cultivo de embriões zigóticos de murici-pitanga *in vitro*. Estes foram cultivados em meios de cultura MS ou WPM com 25, 50 ou 100% dos sais, acrescidos ou não de 3% de sacarose e, sob ácido giberélico (GA3) (0,0; 2,88; 5,77 e 11,54 µM). Plântulas cultivadas *in vitro* forneceram explantes para o alongamento sob GA3 (0,0; 5,77; 11,54 e 23,10 µM); multiplicação sob cinetina (KIN) (0,0; 2,32; 4,64; 9,29 e 18,58 µM); enraizamento sob ácido α-naftalenoacético (ANA) e ácido 3-indol-butírico (AIB) (0,0; 4,52; 9,84; 19,68 e 29,52 µM) isoladamente e, pré-aclimatização em sala de crescimento em substrato terra vegetal e vermiculita (1:1) autoclavado. Houve diferenças significativas entre os meios e a presença de sacarose, onde MS com 50% de sais promoveu maiores médias. O GA3 não influenciou no desenvolvimento embrionário, exceto no comprimento vegetal, que também foi favorecido na etapa de alongamento, além de maior número e comprimento de entrenós. A cinetina apresentou diferenças significativas na multiplicação com maior número de brotos e folhas e, comprimento vegetal. E o AIB apresentou maiores médias de porcentagem de enraizamento, número e comprimento de raiz. A pré-aclimatização foi insuficiente para a sobrevivência de plântulas *ex vitro* necessitando de mais estudos. Assim, torna-se viável o cultivo *in vitro* de murici-pitanga, permitindo a propagação e fornecendo subsídios para futuros estudos.

Palavras-chave: embrião zigótico; hormônios vegetais; organogênese direta.

ABSTRACT

The murici-pitanga is a shrub of great medicinal and nutritional importance, however, extraction and cultivation problems hinder its propagation. And in vitro cultivation provides conditions that optimize its propagation. The objective of this study was to evaluate the culture of zygotic embryos of murici-pitanga in vitro. These were grown in MS or WPM culture media with 25, 50 or 100% of the salts, with or without 3% sucrose and, under gibberellic acid (GA3) (0,0; 2,88; 5,77 and 11,54 µM). Seedlings grown in vitro provided explants for elongation under GA3 (0,0; 5,77; 11,54 and 23,10 µM); multiplication under kinetin (KIN) (0,0; 2,32; 4,64; 9,29 and 18,58 µM); rooting under α-naphthalene acetic acid (ANA) and 3-indole-butyric acid (AIB) (0,0; 4,52; 9,84; 19,68 and 29,52 µM) alone and, pre-acclimatization in a growth on vegetable soil and vermiculite (1:1) autoclaved. There were significant differences between the media and the presence of sucrose, where DM with 50% of salts promoted higher averages. The GA3 did not influence embryonic development, except for plant length, which was also favored in the stretching stage, in addition to a greater number and length of internodes. The kinetin showed significant differences in multiplication with a greater number of shoots and leaves and plant length. And the AIB showed higher averages of rooting percentage, number and root length. Pre-acclimatization was insufficient for the survival of seedlings ex vitro requiring further studies. Thus, in vitro cultivation of murici-pitanga is feasible, allowing for propagation and providing subsidies for future studies.

Keywords: zigotic embryo; vegetable hormones; direct organogenesis.

RESUMEN

El murici-pitanga es un arbusto de gran importancia medicinal y alimentaria; sin embargo, el extractivismo y los problemas en su cultivo dificultan su propagación. El cultivo in vitro proporciona condiciones que optimizan su propagación. El objetivo fue evaluar el cultivo de embriones cigóticos de murici-pitanga in vitro. Estos se cultivaron en

medios de cultivo MS o WPM con 25, 50 o 100% de sales, con o sin 3% de sacarosa, y bajo ácido giberélico (GA3) (0,0; 2,88; 5,77 y 11,54 µM). Las plántulas cultivadas in vitro proporcionaron explantes para el alargamiento bajo GA3 (0,0; 5,77; 11,54 y 23,10 µM); multiplicación bajo cinetina (KIN) (0,0; 2,32; 4,64; 9,29 y 18,58 µM); enraizamiento bajo ácido α-naftalenoacético (ANA) y ácido 3-indol-butírico (AIB) (0,0; 4,52; 9,84; 19,68 y 29,52 µM) de forma aislada y, pre-aclimatización en sala de crecimiento con sustrato de tierra vegetal y vermiculita (1:1) autoclavado. Hubo diferencias significativas entre los medios y la presencia de sacarosa, donde el medio MS con 50% de sales promovió las mayores medias. El GA3 no influyó en el desarrollo embrionario, excepto en el largo vegetal, que también se favoreció en la etapa de alargamiento, además de un mayor número y longitud de los entrenudos. La cinetina presentó diferencias significativas en la multiplicación, con mayor número de brotes y hojas y, mayor longitud vegetal. El AIB presentó las mayores medias de porcentaje de enraizamiento, número y longitud de raíces. La pre-aclimatización fue insuficiente para la supervivencia de plántulas ex vitro, por lo que se necesitan más estudios. Así, se hace viable el cultivo in vitro de murici-pitanga, permitiendo su propagación y proporcionando datos para futuros estudios.

Palabras clave: embrión cigótico; hormonas vegetales; organogénesis directa.

INTRODUÇÃO

O murici-pitanga (*Byrsonima gardneriana* A. Juss.), é uma espécie nativa e endêmica do Brasil, que encontra-se distribuída nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Mamede e Francenere, 2015). Segundo Bezerra *et al.*, (2009), esta espécie apresenta porte arbustivo, com folhas simples, opostas e obovadas; flores amarelas, zigomorfas, organizadas em racemos terminais, com androceu composto por 10 estames e gineceu com ovário súpero e unicarpelar. Os frutos são do tipo drupa, quando maduros apresentam coloração amarela, carnosos e com endocarpo pétreo compreendendo um pirênio que contém três lóculos, com uma semente em cada. A produção de frutos ocorre entre os meses de dezembro e março.

A espécie apresenta diversas utilidades, desde a alimentar, com seus frutos consumidos *in natura* ou na forma de geleias, licores e sorvetes (Guimarães e Silva, 2008) à medicinal, com finalidades terapêuticas comprovadas e potencial farmacológico (Sannomiya *et al*., 2005). Também fornece matéria-prima para a fabricação de caibros e vigas, além do uso em curtumes e tintura de tecidos (Alberto *et al.*, 2011; Guilhon-Simplicio e Pereira, 2011). Apesar da utilidade, atividades extrativistas pelas comunidades locais e comercialização em feiras livres (Donadio *et al.*, 2002), os estudos acerca da propagação da espécie são escassos, tornando-se necessário táticas que garantam a multiplicação, conservação e uso sustentável (Sá *et al.*, 2018). Uma vez que, produzir mudas de espécies nativas, como o murici, é uma grande oportunidade de recuperação de áreas degradadas, como áreas de proteção ambiental. Segundo Costa *et al.* (2013) a recuperação de áreas degradadas é necessária, uma vez que o extrativismo e expansão de terras reduzem a população de espécies endêmicas.

Espécies do gênero Byrsonima Rich. ex Kunth apresentam dificuldades de propagação, com baixa taxa de germinação devido a presença de dormência tegumentar; emergência lenta das plântulas e problemas durante a extração de embriões (Souto e Oliveira, 2005; Carvalho e Nascimento, 2008), dificultando a propagação na natureza. E para otimizar a propagação do murici-pitanga, a cultura de tecidos vegetais torna-se uma alternativa que garante a conservação, e dentre as principais técnicas, destaca-se a micropropagação, que compreende etapas, com estocagem de plantas sadias; corte e esterilização de explantes vegetais; estabelecimento *in vitro* e indução de brotos; enraizamento; aclimatização e crescimento das mudas no campo (Butt *et al*., 2015). Nestas etapas, um balanço hormonal entre auxinas e citocininas, induz divisões celulares que permitem a regeneração do vegetal formando parte aérea ou raízes adventícias (Carvalho *et al*., 2006; BBhojwani e Dantu, 2013).

No cultivo de embriões as giberelinas mais utilizadas na forma de GA3, atuam no processo germinativo proporcionando maior eficiência e velocidade (Guimarães *et al*., 2010) que, segundo

Lima *et al*., (2009) aumenta a atividade de enzimas que atuam na degradação da parede celular das sementes, reduzindo o tempo do processo germinativo.

As citocininas são indispensáveis na etapa de multiplicação, permitindo a proliferação de gemas axilares, o qual, o tipo e concentração influenciam no sucesso da etapa (Brondani *et al*., 2009). Uma das citocininas mais utilizadas nesta fase é a 6-benzilaminopurina (BAP), apresentando maior eficiência em diversas espécies lenhosas, de menor custo de aquisição, além da cinetina (KIN) (Aragão *et al*., 2011). Já as auxinas permitem a formação de raízes adventícias na etapa de enraizamento de brotos, sendo ANA (ácido α-naftalenoacético) e AIB (ácido 3-indol-butírico) as mais utilizadas (Souza e Pereira, 2007). Segundo Oliveira *et al*. (2013), o AIB é a auxina mais utilizada uma vez que apresenta baixa toxicidade aos explantes, permitindo melhores taxas de enraizamento e obtenção de mudas na etapa de aclimatização. Sendo então a aclimatização, o momento em que as mudas são transferidas para casa de vegetação adaptando-se ao ambiente, e limitante para a produção comercial de mudas (Pelizza *et al*., 2011).

O murici-pitanga já vem sendo estudado por Sá *et al*. (2018) quanto a regeneração, utilizando AIB ou BAP em segmentos nodais *in vitro* e por Santos *et al*. (2019) utilizando AIB em estacas de murici em substrato em casa de vegetação. Porém, segundo Sá *et al*. (2018), são necessários novos estudos acerca da multiplicação da espécie e o uso de AIB em concentrações mais elevadas para otimizar o enraizamento *in vitro*. Outras espécies de murici também foram estudadas como *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss. (Martendal *et al*., 2014), e *Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss. (Costa *et al*., 2013), sendo estes dados essenciais para estudos sobre a propagação vegetativa das espécies de murici.

Nesse contexto, objetivou-se estabelecer um protocolo de cultivo *in vitro* de plântulas de murici-pitanga (*Byrsonima gardneriana* A. Juss.) a partir de embriões zigóticos.

METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Anatomia e Fisiologia Vegetal, localizado no Departamento de Educação, *Campus* VIII, da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Paulo Afonso – BA. Os frutos de murici-pitanga foram coletados em indivíduos naturais localizados em uma área de 1,2 ha no Povoado Juá (09°26’48,8" S e 38°25’53,1" W Gr., altitude de 428m - Datum WGS 84), munícipio de Paulo Afonso-BA. Os frutos foram mantidos em sacos de papel kraft até o momento de beneficiamento e as exsicatas de material botânico encontram-se depositadas no Herbário da Universidade do Estado da Bahia (HUNEB) sob registro 28450.

O munícipio de Paulo Afonso-BA está inserido na Ecorregião do Raso da Catarina e possui predominância de clima quente, com pouca pluviosidade ao longo do ano, com 540 mm e temperatura com média anual de 25,8°C (Climate-Data, 2019).

Em laboratório, os frutos foram beneficiados por meio da retirada da polpa (mesocarpo) em peneira de aço e lavagem em água corrente durante 10 minutos, e em seguida, passaram pelo processo de secagem sobre papel toalha à sombra e em temperatura ambiente. Os pirênios foram armazenados em saco de papel kraft à temperatura de 10 ºC em geladeira, até a montagem dos experimentos.

Para extração de sementes, os pirênios foram fraturados por compressão (quebra do endocarpo) utilizando-se uma morsa de bancada. Cada pirênio apresentava três lóculos, com 1 a 3 sementes, 1 por lóculo.

Em câmara de fluxo laminar sob condições assépticas, as sementes foram desinfestadas com imersão em álcool a 70% (v/v) por 30 segundos, em seguida, em solução de NaOCl à 2,5% de cloro ativo por

10 minutos, lavadas três vezes em água destilada autoclavada, e por fim foi retirado o tegumento das sementes com auxílio de pinça, ficando somente os embriões que foram inoculados em meio de cultura.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 3 ºC, fotoperíodo de 16 horas, e radiação fotossintética ativa de 40 µmol $m^{-2}s^{-1}$. Em experimentos de desenvolvimento de embriões, a germinação foi avaliada diariamente, considerando os embriões germinados quando o ápice radicular atingisse 2 mm de comprimento, indicando assim, a protrusão radicular.

Após 60 dias de cultivo, foi avaliado a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG), número de folhas, entrenós e raiz, comprimento de parte aérea (cm), de raiz (cm), e comprimento total da plântula (cm) e massa da matéria seca total (g).

Concentrações de sais nos meios MS e WPM e sacarose no desenvolvimento de embriões zigóticos

Embriões de murici-pitanga previamente desinfestados foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL^{-1} dos meios de cultura MS (MMurashige e Skoog, 1962) e WPM '*Woody Plant Medium*' (LLloyd e McCown, 1980), ambos nas concentrações de sais em 25, 50 e 100%, e o tratamento controle somente com água destilada, acrescidos ou não de 3% de sacarose. Para gelificação do meio, utilizou-se 0,4% de ágar (Dinâmica®) e, o pH do meio ajustado para 5,8 ± 0,1 (utilizando-se NaOH ou HCL 0,1N) antes da autoclavagem à temperatura de 121 ºC por 20 minutos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 16 tratamentos, com 20 repetições cada, e cada repetição contendo um tubo de ensaio com uma semente.

Concentrações de GA_3 no desenvolvimento de embriões zigóticos

Embriões de murici-pitanga previamente desinfestados foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL^{-1} de meio de cultura do melhor resultado do experimento anterior, suplementado com 3% de sacarose e gelificado com 0,4% de ágar, contendo diferentes concentrações de ácido giberélico (GA_3) (0,0; 2,88; 5,77 e 11,54 µM). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 ± 0,1 (utilizando NaOH ou HCL0,1N) antes da autoclavagem à temperatura de 121 ºC por 20 minutos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, com 20 repetições, e cada repetição contendo um tubo de ensaio com uma semente.

Embriões previamente desinfestados foram inoculados em tubos de ensaio contendo10 mL-1 de meio de cultura MS com 50% das concentrações dos sais, suplementado com 3% de sacarose e gelificado com 0,4% de ágar. As concentrações de ácido giberélico consideradas com: 0 (testemunha); 2,88; 5,77 e 11,4. O pH do meio foi ajustado para 5,8 ± 0,1, utilizando soluções de NaOH ou HCl, na concentração de 0,1N. Após o ajuste do PH, o meio de cultura foi autoclavado à temperatura de 121C, durante 20 minutos

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições. Cada parcela foi representada por um tubo de ensaio contendo uma semente.

GA_3 no alongamento de plântulas

Foram utilizadas plântulas de murici-pitanga com 60 dias de cultivo com aproximadamente 4 cm de comprimento, 8 folhas e 2 nós, provenientes do experimento anterior, das quais, partes das folhas cotiledonares e raízes foram excisadas, obtendo-se, explantes com aproximadamente1cm de comprimento e 2 nós.

Estes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL^{-1} de meio de cultura do melhor resultado do primeiro experimento, suplementado com 3% de sacarose e gelificado com 0,4% de ágar, contendo diferentes concentrações de GA_3 (0,0; 5,77; 11,54; 23,09 µM). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 ± 0,1 (utilizando NaOH ou HCL0,1N) antes da autoclavagem à temperatura de 121 ºC por 20 minutos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos, com 10 repetições, e cada repetição contendo um tubo de ensaio com um explante, totalizando 40 tubos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 3 ºC, fotoperíodo de 16 horas, e radiação fotossintética ativa de 40 µmol $m^{-2}s^{-1}$. Após 60 dias de cultivo, foram avaliados o número de folhas, comprimento de parte aérea (cm), número de entrenó, comprimento de entrenó (mm) e massa da matéria seca total (g).

Cinetina na multiplicação em segmentos nodais

Foram excisados segmentos nodais com cerca de 1 cm^{-1} de comprimento de plântulas de murici-pitanga com 60 dias de cultivo com aproximadamente 4 cm de comprimento, 8 folhas e 2 nós. Os segmentos nodais foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL^{-1} de meio de cultura do melhor resultado do primeiro experimento, suplementado com 3% de sacarose e gelificado com 0,4% de ágar, contendo diferentes concentrações de cinetina (KIN) (0,0; 2,32; 4,64; 9,29 e 18,58 µM). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 ± 0,1 (utilizando NaOH ou HCL 0,1N) antes da autoclavagem à temperatura de 121 ºC por 20 minutos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, com 10 repetições, e cada repetição contendo um tubo de ensaio comum segmento nodal, totalizando 50 tubos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 3 ºC, fotoperíodo de 16 horas, e radiação fotossintética ativa de 40 µmol $m^{-2}s^{-1}$. Após 30 dias de cultivo, foram avaliados comprimento da parte aérea (cm) e número de brotos por explante e número de folhas. Também foi avaliado a massa fresca de calos (g) formados na base dos explantes.

Diferentes auxinas no enraizamento de brotos

Para a etapa de enraizamento, os brotos de murici-pitanga provenientes do experimento anterior foram individualizados e inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL^{-1} de meio de cultura do melhor resultado do primeiro experimento, suplementado com 3% de sacarose e gelificado com 0,4% de ágar, contendo diferentes concentrações das auxinas ácido indol 3-butírico (AIB) e ácido α-naftalenoacético (ANA) (0,0; 4,52; 9,84; 19,68 e 29,52 µM) isoladamente. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 ± 0,1 (utilizando NaOH ou HCL0,1N) antes da autoclavagem à temperatura de 121 ºC por 20 minutos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 10 tratamentos e 10 repetições, e cada repetição contendo um tubo de ensaio com um broto, totalizando 100 tubos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 3 ºC, fotoperíodo de 16 horas, e radiação fotossintética ativa de 40 µmol $m^{-2}s^{-1}$. Após 60 dias os brotos foram avaliados, quanto a presença ou ausência de rizogênese (porcentagem de enraizamento), número de raízes e folhas e, comprimento de raiz (cm), além da massa fresca de calos (g) formados na base dos explantes.

Pré-aclimatização de brotos enraizados

Cinquenta brotos de murici-pitanga enraizados provenientes do experimento anterior foram transferidos para recipientes plásticos contendo substrato composto por terra vegetal + vermiculita (1:1) previamente autoclavado a 121°C, por 20 minutos e, umedecido com água destilada autoclavada. Os brotos enraizados apresentavam entre 3 a 4 pares de folhas, com raízes com cerca de 3 cm de comprimento. Em seguida os recipientes foram envolvidos com sacos plásticos transparentes, permanecendo em sala de crescimento a 25 ± 3 ºC, com fotoperíodo de 16 horas e radiação fotossintética ativa de 40 µmol $m^{-2}s^{-1}$. Diariamente as plântulas foram regadas com meio de cultura MS líquido e, a cada 7 dias foram realizados furos nos sacos para permitir trocas gasosas. E ao final de 30 dias foi avaliada a porcentagem de sobrevivência das plântulas.

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância, com as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade com auxílio do programa estatístico Sisvar 5.6 (Ferreira, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Concentrações de sais nos meios MS e WPM e sacarose no desenvolvimento de embriões zigóticos

Para porcentagem de germinação, a interação entre o tipo de meio e a concentração de sais foi significativa. O tratamento controle (água e ágar) permitiu alta porcentagem de germinação, e ao utilizar meio MS, a porcentagem de germinação atingiu 100% das sementes germinadas com 50% da concentração de sais, mas não diferiu da concentração de 100% de sais. Para os embriões germinados em WPM, independentemente da concentração de sais, a porcentagem de germinação foi inferior (Figura 1. A).

Para o IVG, as diferenças estatísticas foram observadas na interação do tipo de meio e a concentração de sais utilizadas, onde o meio MS apresentou maior IVG a 50% de concentração de sais, em relação ao meio de cultivo WPM, onde as taxas foram menores a partir do aumento da concentração de sais (Figura 1. B).

Os sais e carboidratos presentes no meio de cultura podem interferir na regulação osmótica e, com isso, permitir a embebição das sementes e, consequentemente, ocorrer a germinação (Nogueira *et al*., 2004). As concentrações elevadas de sacarose podem inviabilizar a embebição de sementes, consequentemente, a germinação (George, 1996), e em baixas concentrações, podem melhorar o processo fotossintético, interferindo no crescimento *in vitro* (Fuentes *et al*., 2007). O recomendado, por alguns autores, é manter a concentração de sacarose em 30 gL^{-1}, permitindo que ocorra acúmulo de reservas (produção de biomassa) e, consequentemente, aumentando a sobrevivência durante o processo de aclimatização (Capellades *et al*., 1991).

Em espécies do gênero *Byrsonima*, já foram observados resultados semelhantes ao estudo, onde formulações de meio que, como meio MS com 100% da concentração dos sais, acrescido de 30 gL^{-1} de sacarose como para otimizam a germinação *in vitro Byrsonima verbascifolia* Rich. (Castro *et al*., 2005), sendo este resultado semelhante ao obtido neste trabalho. Já Nogueira *et al*. (2004), recomendou para *Byrsonima intermedia* A. Juss., meios MS ou WPM, ambos na concentração dos sais de 50%, porém, sem o acréscimo de sacarose. E Martendal *et al*. (2013), trabalhando com *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss., indicam o uso de meio de cultura composto somente de água e ágar para a germinação *in vitro*, e para o crescimento das plântulas, recomendam meio WPM 50%. Estes últimos autores observaram que o meio composto de água e ágar proporciona melhor crescimento das plântulas e permite que a germinação ocorra sem o acréscimo de sais ou sacarose, uma alternativa para redução de custos.

Para as variáveis de crescimento das plântulas foram observados resultados significativos. O número de folhas apresentou diferença significativa quando considerada a interação entre o tipo de meio e a concentração de sais utilizadas. O uso de meio MS com 50% da concentração de sais aumentou a produção foliar, e quando a concentração dos sais aumentou (100%) o número foliar foi reduzido. Já em meio WPM, o número foliar foi menor e manteve-se constante em altas concentrações de sais (Figura 1. C). A redução do número foliar também foi relatada por Martendal *et al*. (2013), em plântulas de *B. cydoniifolia*, porém, quando estas foram cultivadas em meio MS com 25% da concentração dos sais.

A altura das plântulas apresentou diferença significativa na interação entre o tipo de meio e o uso de sacarose, onde plântulas cultivadas em meio MS apresentaram maiores comprimentos em relação ao meio WPM, e com a presença de sacarose atingindo 60 mm (30 gL^{-1}), enquanto em meio WPM as médias foram menores, não se diferindo em relação ao uso de sacarose com 36 mm (Figura 2. A). O comprimento das raízes também apresentou diferenças significativas para a interação entre o tipo de meio e o uso de sacarose, apresentando o mesmo comportamento observado para a altura, onde o meio MS acrescido de sacarose apresentou maiores comprimentos (3,56 cm) em relação ao WPM (Figura 2. B). Besson *et al*. (2010) restringem o aumento da concentração de sacarose, pois ocasiona queda na absorção de sais e água e interfere no crescimento vegetal.

De acordo com Bandinelli *et al*. (2013), concentrações de sacarose superiores a 30 gL^{-1} permitem que ocorra aumento do potencial osmótico do meio de cultura, interferindo no crescimento vegetal, o que possivelmente pode ter ocorrido nas plântulas de murici-pitanga cultivadas em meio com 30 gL^{-1} de sacarose. Besson *et al*. (2010) observaram maior comprimento de parte aérea em *Miltonia flavescens* em 30 e 45 g L^{-1} de sacarose. Já Torres *et al*. (2005), relataram melhor desenvolvimento de parte aérea com plântulas de *Heliconia rostrata* (Ruiz & Pav.) com 30 gL^{-1}, além de observar que o aumento para 60 gL^{-1} reduziu a formação de plântulas e em concentrações superiores houve inibição de germinação, apontando uma queda do potencial osmótico.

Contudo, a germinação *in vitro* do murici-pitanga (*Byrsonima gardneriana* A. Juss.) é favorecida pelas condições dispostas, meio de cultura MS 50% e 3% de sacarose, permitindo a obtenção de plântulas bem desenvolvidas e prontas para o processo de aclimatização ou multiplicação *in vitro* (Figura 3).

Concentrações de GA_3 no desenvolvimento de embriões zigóticos

Para a germinação de embriões de murici-pitanga, o uso de diferentes concentrações de GA_3 não apresentou diferença significativa, atingindo 100% de em todas as concentrações testadas. Já para o crescimento das plântulas, o GA_3 não apresentou resultados significativos para as variáveis de número de entrenós, obtendo média de 2 entrenós por plântula; número de raízes com média de 2 raízes e, comprimento de raiz com média de 6,45 cm.

Somente foram observados resultados significativos para o comprimento de parte aérea, observando maior alongamento celular utilizando até 2,88 µM de GA_3 (Figura 4. A) E para o número de folhas e massa da matéria seca total, houve redução significativa quanto a presença do regulador de crescimento (Figura 4. B e C).

Na germinação de sementes, o ácido giberélico tem permitido o aumento no percentual do processo germinativo de várias espécies como o ingazeiro (*Inga vera* Willd.) (Stein *et al*., 2007) e mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez) (Pinheiro *et al*., 2001). E para o gênero *Byrsonima*, foi relatada a eficiência do GA_3 a 500 mgL^{-1} na superação de dormência de diásporos de *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth com imersão por 24 horas (Carvalho e Nascimento, 2018).

A exposição ao GA_3, segundo Lima *et al*., (2009) pode reduzir o tempo do processo germinativo em decorrência da ação e, consequentemente, o aumento da atividade de enzimas que atuam na degradação da parede celular das sementes. Porém, sua ação depende da espécie, do estágio de desenvolvimento, da concentração e interação com outros reguladores de crescimento, interferindo no crescimento vegetal

GA_3 no alongamento de plântulas

O desenvolvimento das plântulas submetidas ao alongamento sob as diferentes concentrações de GA_3, foi significativo e semelhante ao observado em plântulas de murici-pitanga germinadas em meio de cultura com o regulador de crescimento.

O uso de diferentes concentrações do regulador de crescimento, apresentou diferença significativa somente para comprimento de parte aérea, número de entrenó e comprimento de entrenó (Figura 5. A – C e Figura 6). Para as demais variáveis analisadas, número de folhas e massa seca total, não houve diferença significativa, atingindo média de 8 folhas e 0,027 g de biomassa.

Para comprimento de parte aérea das plântulas de murici-pitanga, pôde-se observar que a partir do aumento da concentração, os comprimentos foram maiores, atingindo 2,4 cm. Em relação ao número de entrenós, o mesmo permaneceu em 3 entrenós em plântulas do tratamento controle ou em 5,77 µM de GA_3 e, quando as concentrações aumentaram o número de entrenó passou em média de 3 para 4, por plântula. Para o comprimento de entrenós, pôde-se observar que em altas concentrações ocorreu um estiolamento, onde na maior concentração (23,09 µM), o comprimento atingiu

cerca de 0,48 cm.

O uso do GA_3 é bastante comum quando objetiva-se induzir o desenvolvimento dos órgãos vegetativos de plântulas (Silva *et al.*, 2012; Cruciol *et al.*, 2014). Tal eficiência deve-se ao fato de o regulador aumentar a divisão e expansão celular, promovendo o alongamento de entrenós, e consequentemente maiores comprimentos de parte aérea (Taiz; Zeiger *et al*., 2013), sendo assim, essencial para o crescimento das plântulas (Santos *et al*., 2013).

Segundo Taiz e Zeiger (2013) o efeito das giberelinas é notável durante o crescimento de caule de plantas, porém sob o crescimento da raiz, este regulador apresenta pouco efeito em tecidos radiculares. O que realmente foi observado para a espécie estudada, altas concentrações de GA_3 inibem a formação de raízes.

Efeitos negativos da presença do GA_3 foram observados quanto ao número foliar de plântulas de pimenta longa (*P. hispidinervum*) (Simões *et al*., 2012); massa da matéria seca das plântulas de *Uncaria guianensis* (Pereira *et al.*, 2006). Já em porta-enxerto de *Chaenomeles sinensis* (Pio *et al*., 2010) observaram um incremento na massa vegetal, a partir do aumento do comprimento vegetal quanto a presença do regulador. Este efeito em porta enxertos permite reduzir o tempo entre produção e transporte para enxertia, melhorando o processo de propagação (Pio *et al.*, 2007).

A indução de calos é comum em etapas de alongamento, devido a presença de reguladores de crescimento. Nas concentrações testadas de GA_3, houve indução de calos na base dos explantes, podendo-se observar diferença significativa para a massa seca de calo, com indução mesmo em plântulas cultivadas em tratamento controle. Porém, a massa seca de calos aumentou a partir do acréscimo de GA_3 no meio, atingindo 0,020 g de calo em altas concentrações (Figura 5. D).

A formação de calos é relatada quanto à utilização do GA_3. Navroski *et al.* (2013) observaram que plântulas de *Eucalyptus dunnii* Maiden, apresentaram indução de calos a partir do aumento das concentrações de GA_3, em aproximadamente 55 % de plântulas em 0,8 mgL^{-1} e, que em tratamento controle, não houve indução de calos.

A partir dos resultados é notório que para a germinação do murici-pitanga, é necessário utilizar outros mecanismos que permitam o seu cultivo *in vitro*. E que o GA_3 a 11,4 µM possibilita um melhor desenvolvimento de plântulas (Figura 6), conferindo alongamento de parte aérea, maior número e comprimento de entrenós, com pouca indução de calos. Ainda mais, o alongamento permite a multiplicação de brotos a partir de segmentos nodais, tornando mais fácil a individualização (Mantovani *et al*., 2001).

Cinetina na multiplicação em segmentos nodais

Na etapa de multiplicação os resultados apresentaram diferenças significativas para o número de brotos, número de folhas e comprimento de parte aérea em relação as diferentes concentrações de cinetina (KIN) testadas (Figura 7. A - C).

As variáveis número de brotos e número de folhas apresentaram aumento com o uso de altas concentrações de KIN (18,58 µM), atingindo média de dois brotos e oito folhas (Figura 7. A e B.; Figura 8. A).

Para a variável comprimento de parte aérea, o acréscimo das concentrações de KIN induziu maiores comprimentos até 9,29 µM medindo cerca de 0,6 mm. Já em meio contendo 18,58 µM os brotos apresentaram redução no comprimento (Figura 7. C).

Trabalhando com a mesma espécie, Sá *et al.* (2018) observaram efeito satisfatório com outra citocinina, 6-benzilaminopurina (BAP), sendo indicada para a indução de brotos nas concentrações de 2,0 e 4,0 µM, porém indicam que a fase de multiplicação *in vitro* de *B. gardneriana* necessita de mais estudos.

Poucos trabalhos relatam a eficiência do uso de KIN na etapa de multiplicação *in vitro*, como Pereira *et al*. (2014), com uma cultivar de bananeira (*Musa* spp.), onde 4 mgL^{-1} de KIN induziu o maior número de brotos, e Restelatto *et al.* (2014) com cravo (*Dianthus caryophyllus* L.) induzindo maiores comprimentos de brotos maiores com 2,0 e 4,0 mgL^{-1} de KIN.

Por outro lado, para a multiplicação *in vitro* de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.) (Silva *et al*., 2014) e, ipê amarelo (*Handroanthus chrysotrichus*) (Pereira *et al*., 2015) não é indica a suplementação com citocininas.

O sucesso da etapa de multiplicação depende comumente do uso das citocininas, sendo imprescindível propor o melhor tipo e concentração de citocinina a ser utilizada (Soares *et al*., 2014), permitindo que ocorra a quebra da dominância apical, induza a proliferação das gemas axilares e que o crescimento do explante ocorra normalmente (Xavier *et al*., 2013).

A redução do comprimento de parte aérea dos brotos em alta concentração de citocinina também foi observada em brotações de catingueira (*C. piraminalis*) (Silva *et al*., 2014); guarirobeira (*Campomanesia adamatium* CAMB) (Rossato *et al*., 2015) e jequitibá-branco (*Cariniana estrellensis*) (Albino *et al*., 2019).

O excesso de citocininas na etapa de multiplicação *in vitro* pode interferir no desenvolvimento dos brotos, dentre os quais destaca-se o encurtamento vegetal (Wedling *et al*., 2006). O qual, foi observado para a presente espécie, alta concentração de cinetina pode reduzir o comprimento dos brotos, sendo recomendada sua utilização em concentrações abaixo de 18, 58 µM.

A presença de KIN no meio de cultura também permitiu a indução de calos nos explantes (Figura 8. B), indicando um balanço hormonal equilibrado, entretanto, a massa fresca de calos não apresentou diferença significativa entre as concentrações de KIN testadas, com média de 0,04g de massa de calo.

Os calos estiveram presentes durante a etapa de multiplicação de espécies lenhosas como o pau – brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) (Aragão *et al*., 2011); catingueira (*C. piramidalis*) (Silva *et al*., 2014). Segundo Cheng *et al*. (2013), a formação de calos é desencadeada pelas elevadas concentrações de citocininas que reagem com as baixas concentrações de auxina endógena do explante, formando um equilíbrio.

A presença de calos na base dos explantes pode interferir no processo de propagação de plântulas, comprometendo a proliferação de gemas axilares e o desenvolvimento *in vitro* (Navroski *et al*., 2013; Pereira *et al*., 2015). Porém, não foi observada interferência dos calos na etapa de multiplicação *in vitro*, podendo ser explicada devido à baixa quantidade de calos formada.

Diferentes auxinas no enraizamento de brotos

Na etapa de enraizamento de brotos, foram observadas diferenças significativas para a porcentagem de enraizamento, número de raiz e comprimento de raiz em relação aos tipos de auxinas testadas. Os brotos cultivados em meio suplementado com (ácido indol 3-butírico) AIB apresentaram diferenças significativas com as maiores médias, quando comparados com brotos cultivados meio suplementando com ácido α-naftalenoacético (ANA) (Figura 9. A-C).

Para porcentagem de enraizamento os brotos de murici apresentaram 24% de raízes formadas em meio suplementado com AIB, e 13% em meio suplementado com ANA (Figura 9. A). Para o número de raiz, brotos enraizados em meio contendo AIB apresentaram média de 0,5 raízes por broto, já em meio com ANA, o número de raiz foi menor, atingindo média de 0,16 raízes por broto (Figura 9. B).

Para *B. gardneriana*, Sá *et al.* (2018) observaram o enraizamento *in vitro* de brotos na ausência e presença de AIB, não apresentando diferença significativa entre as concentrações testadas, com média de 36% de raízes formadas. Diferentemente, Santos *et al*. (2019) trabalhando com estacas, observaram que o AIB induz o enraizamento para a espécie. Já Costa *et al*. (2013), observaram que estacas de *B. verbascifolia*, necessitam de altas concentrações de AIB para o enraizamento. Sendo assim, *B. gardneriana* necessita de mais estudos quanto ao uso do AIB na etapa de enraizamento, uma vez que os trabalhos com estacas indicam a alternativa de enraizamento *ex vitro* durante a etapa de aclimatização. A importância das auxinas no enraizamento *in vitro* é relatada por vários autores, e

dentre as auxinas, AIB é o mais utilizado devido aos resultados alcançados na sua presença, a fotoestabilidade e menor custo de aquisição (Soares *et al*., 2014).

Para o comprimento de raízes houve diferença significativa somente entre os tipos de auxinas testadas, onde raízes de brotos cultivados em meio suplementado com AIB apresentaram maiores comprimentos (0,42 cm) em relação às raízes de brotos cultivados em meio suplementado com ANA (0,13 cm) (Figura 9. C).

Em brotações de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A. C. Smith (Fermino-Junior; Scherwinski; Pereira, 2012); umburana de cheiro (*A. cearenses*) (Campos *et al*., 2013) e em uma cultivar de ameixeira (*Prunus cerasifera* Ehrh.) (Radmann *et al*., 2014) foram observados maiores comprimentos de raiz em meio contendo AIB. Segundo Radmann *et al.* (2014) o maior comprimento de raiz é uma resposta da influência da auxina na indução e no crescimento, e conforme aumenta a concentração há redução do comprimento radicular.

O número de folhas também apresentou diferenças significativas, no entanto, para as concentrações testadas independentemente do tipo de auxina. Brotos dispostos em meio isento de reguladores apresentaram maior média em relação aos brotos dispostos ao meio com acréscimo de auxinas (Figura 9. D). O mesmo comportamento também foi observado por Pádua *et al.* (2014). Isso pode ter ocorrido devido a quantidade de auxina endógena ser ideal para a emissão de folhas (em baixa concentração), e quando aumenta a concentração de auxina exógena o efeito passou a ser negativo (Ismaili; Fiku, 2010).

Efeitos negativos também foram observados quanto a indução de calos na base dos brotos, avaliada quanto a massa fresca de calos, indicando que as auxinas favoreceram a calogênese, apresentando diferença estatística entre o tipo de auxina e a concentração utilizada (Figura 9. E).

Em meio suplementado com ANA houve maior acúmulo de massa fresca de calos em decorrência do aumento das concentrações, com 0,47g de massa de calos na base dos explantes. A massa de calos em meio suplementado com AIB também aumentou, mas, este aumento ocorreu a partir da presença e do aumento das concentrações no meio, mantendo-se constante a partir de 9,84 µM com 0,27g de massa de calos (Figura 9. E). A menor taxa de enraizamento de brotos em meio contendo ANA pode ter ocorrido devido às altas concentrações desta auxina permitindo a formação de calos na base do explante (Figura 10) e consequentemente comprometendo a rizogênese e o crescimento do vegetal. A presença de calos também foi observada por (Radmann *et al*., 2014) em brotos de ameixeira expostos ao AIB, relacionando-a com a menor porcentagem de enraizamento em altas concentrações da auxina.

Pré-aclimatização de brotos enraizados

Verificou-se que uma semana após serem submetidos a pré-aclimatização os brotos micropropagados *in vitro*, começaram a apresentar sensibilidade a desidratação e ao ataque de microorganismos, ocasionando aumento da taxa de mortalidade (30%). Essa sensibilidade foi observada pela presença de murcha foliar e contaminação fúngica. Além disso, foi observada a presença de gotículas de água no saco plástico. Indicando a transpiração foliar. Após 2 semanas de pré-aclimatização, somente 8% dos brotos estavam vivos, porém apresentavam queda foliar, ao final do experimento observou-se que os brotos não haviam sobrevivido, atingindo 0% de sobrevivência.

Diversos fatores podem contribuir para a baixa taxa de sobrevivência, uma vez que sob condições de aclimatização o vegetal passa da condição heterotrófica para a autotrófica, o que pode causar estresses fisiológicos e resultar em perdas de material micropropagado (Bandeira *et al*., 2007; Oliveira *et al*., 2013).

Os fatores que causam problemas nesta etapa podem ser as condições ambientais (luminosidade, umidade relativa), condições do cultivo (meio, sacarose), além das condições do próprio vegetal que estava em

condições laboratoriais (presença de raiz) (Campos *et al*., 2013). Um destes é o estresse hídrico, resultante da elevada taxa de transpiração (Barboza *et al*., 2006) induzindo a planta perder água em condições de alta luminosidade, alta concentração de CO_2 e ausência de sacarose, uma vez que apresenta estômatos pouco funcionais. Diante do exposto tornam-se necessários estudos adicionais na etapa de pré-aclimatização de plântulas de murici-pitanga almejando o sucesso na produção de mudas em larga escala.

CONCLUSÕES

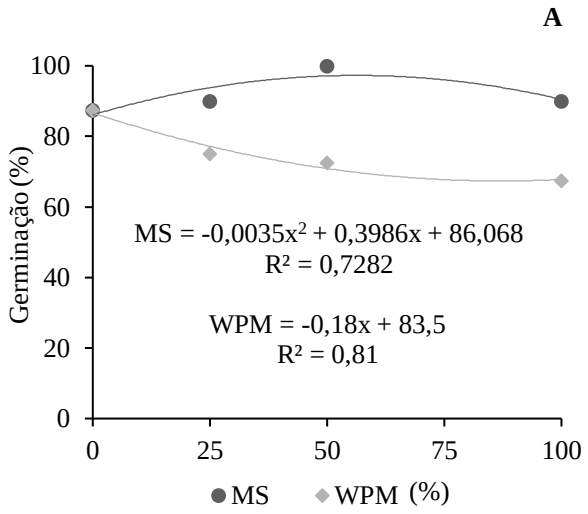
Para o cultivo *in vitro* do murici-pitanga é indicado o meio de cultura MS com 50% das concentrações de sais, acrescido de 3% de sacarose.

O uso do GA_3 não interfere no cultivo de embriões, porém, é indicado a 11,4 µM para o crescimento e alongamento das plântulas.

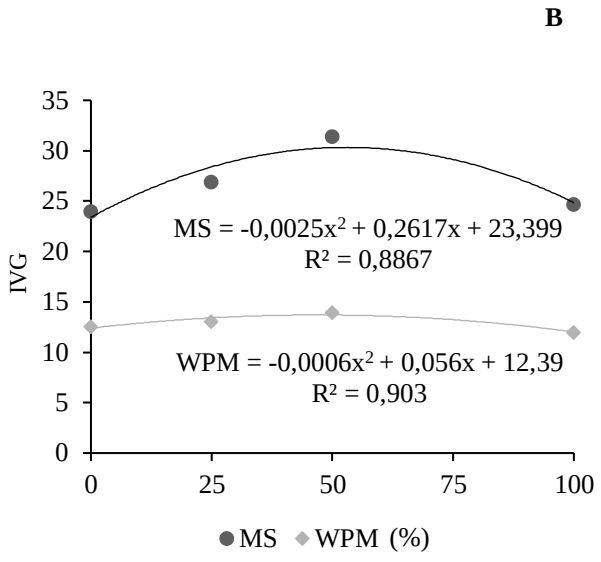
Para a etapa de multiplicação *in vitro*, é recomendado o uso de 18,58 µM de KIN e para a etapa de enraizamento *in vitro*, 29,52 µM de AIB.

E para a etapa de pré-aclimatização das brotações são necessários estudos mais aprofundados para aumentar a taxa de sobrevivência *ex vitro*.

Figura 1. Dados morfométricos do desenvolvimento de embriões zigóticos de murici-pitanga *in vitro* em diferentes concentrações de sais de meio de cultura MS e WPM. A. Porcentagem de germinação; B. IVG e C. Número de folhas.



CONTINUAÇÃO FIGURA 1.



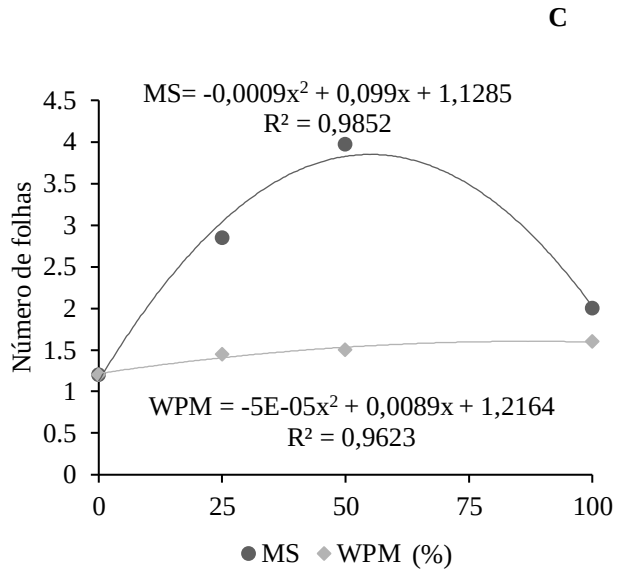


Figura 2. Dados morfométricos do desenvolvimento de embriões zigóticos de murici-pitanga *in vitro* em diferentes concentrações de sais de meio de cultura MS e WPM, acrescidos (30g) ou não (0g) de sacarose. A. Altura (mm) e B. Comprimento de raiz (cm).

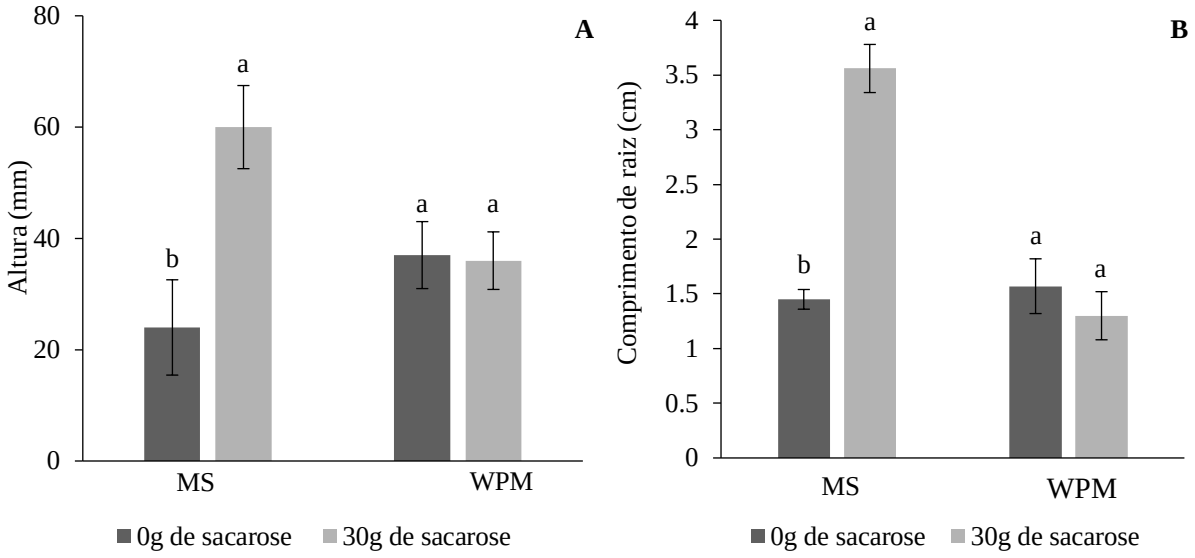


Figura 3. Desenvolvimento do embrião zigótico de murici-pitanga cultivado por 30 dias *in vitro.* A. Frutos com endocarpo e sementes; B. Embrião presente em endocarpo (0,8 cm); C. Embrião (0,5 cm); D. Embrião *in vitro* com radícula presente (1,0 cm); E. Embrião com abertura dos cotilédones (1,5 cm); F. Intumescimento dos cotilédones (2,0 cm); G. Parte aérea (2,0 cm); H. Presença de raiz (3,0 cm); I e J. Plântula com 60 dias de cultivo *in vitro* (3,0 e 5,0 cm).

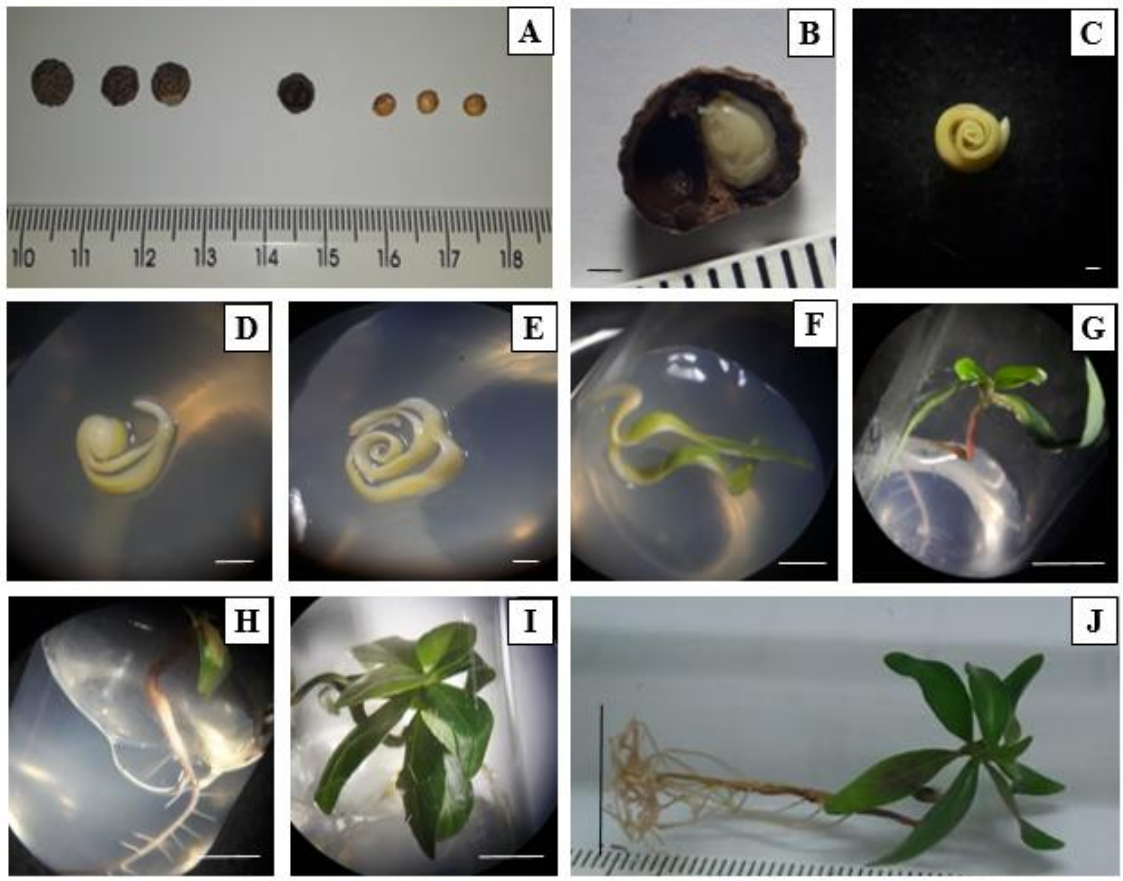


Figura 4. Dados morfométricos de plântulas de murici-pitanga provenientes do desenvolvimento de embriões zigóticos *in vitro* em diferentes concentrações de GA_3. A. Comprimento de parte aérea (cm); B. Número de folhas e C. Massa da matéria seca total (g).

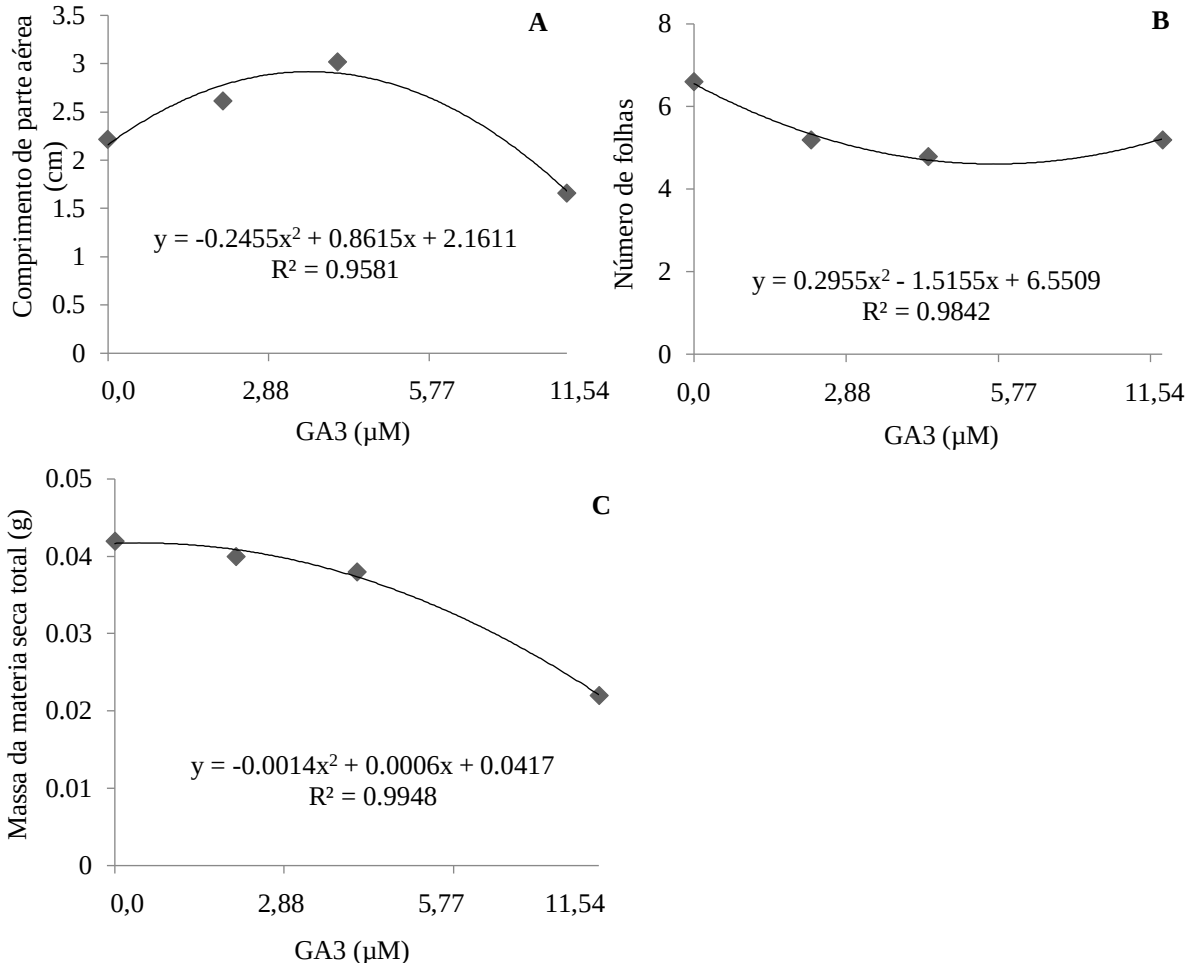


Figura 5. Dados morfométricos de plântulas de murici-pitanga submetidas ao alongamento *in vitro* em diferentes concentrações de GA_3. A. Comprimento de parte aérea (cm); B. Número de entrenós; C. Comprimento de entrenós (cm) e D. Massa da matéria seca de calo (g).

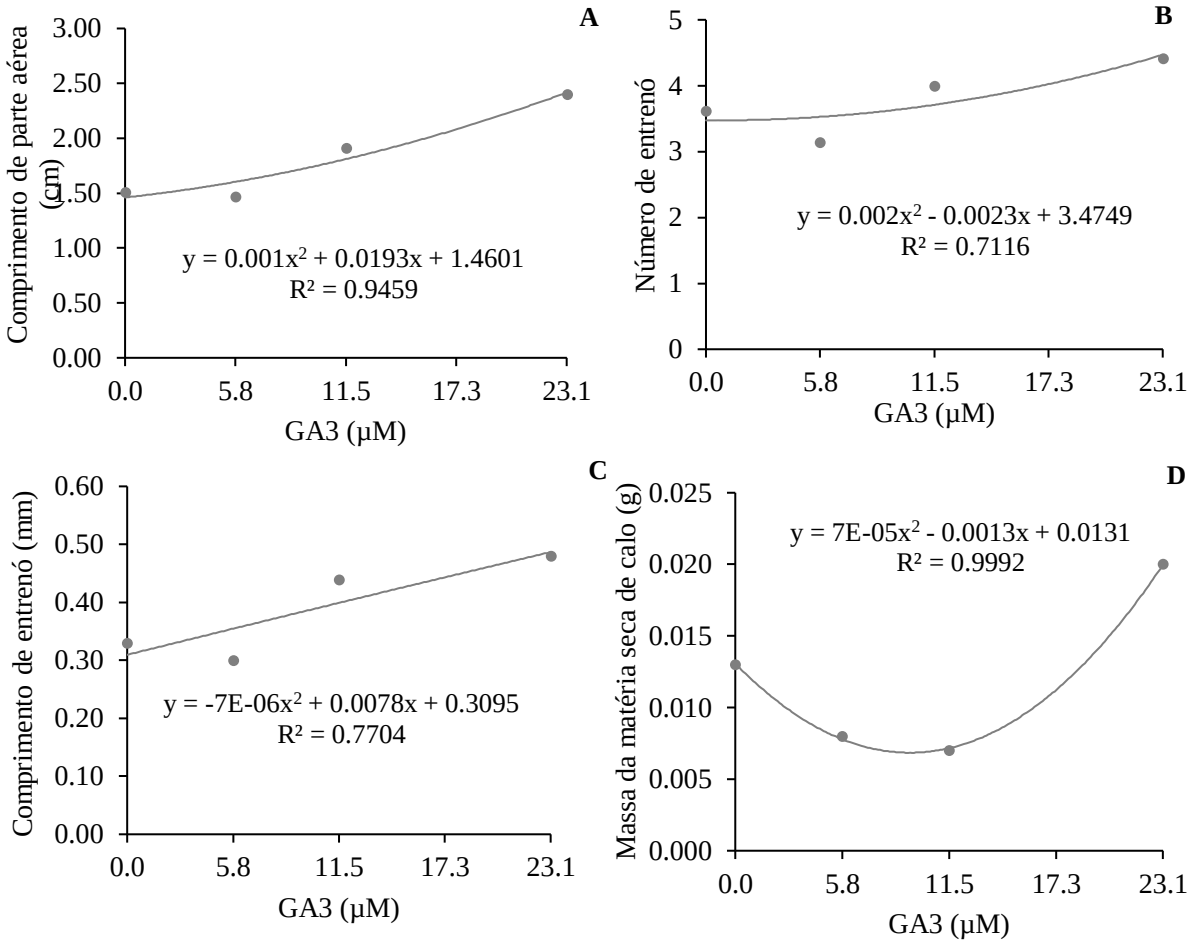


Figura 6. Plântulas de murici-pitanga *in vitro* submetidas ao alongamento em diferentes concentrações de GA_3. Da direita para a esquerda 1,5 cm; 1,6 cm; 2,0 cm e 2,5 cm de comprimento.

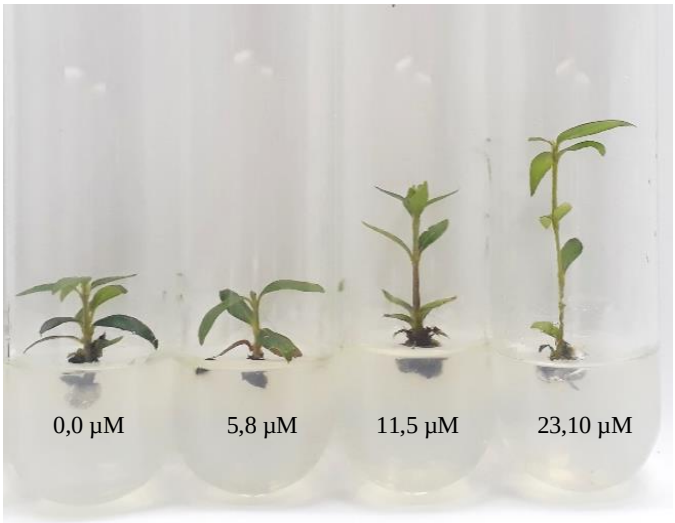


Figura 7. Dados morfométricos de segmentos nodais de murici-pitanga submetidos a multiplicação *in vitro* em diferentes concentrações de KIN. A. Número de brotos; B. Número de folhas; C. Comprimento de parte aérea de brotos (mm).

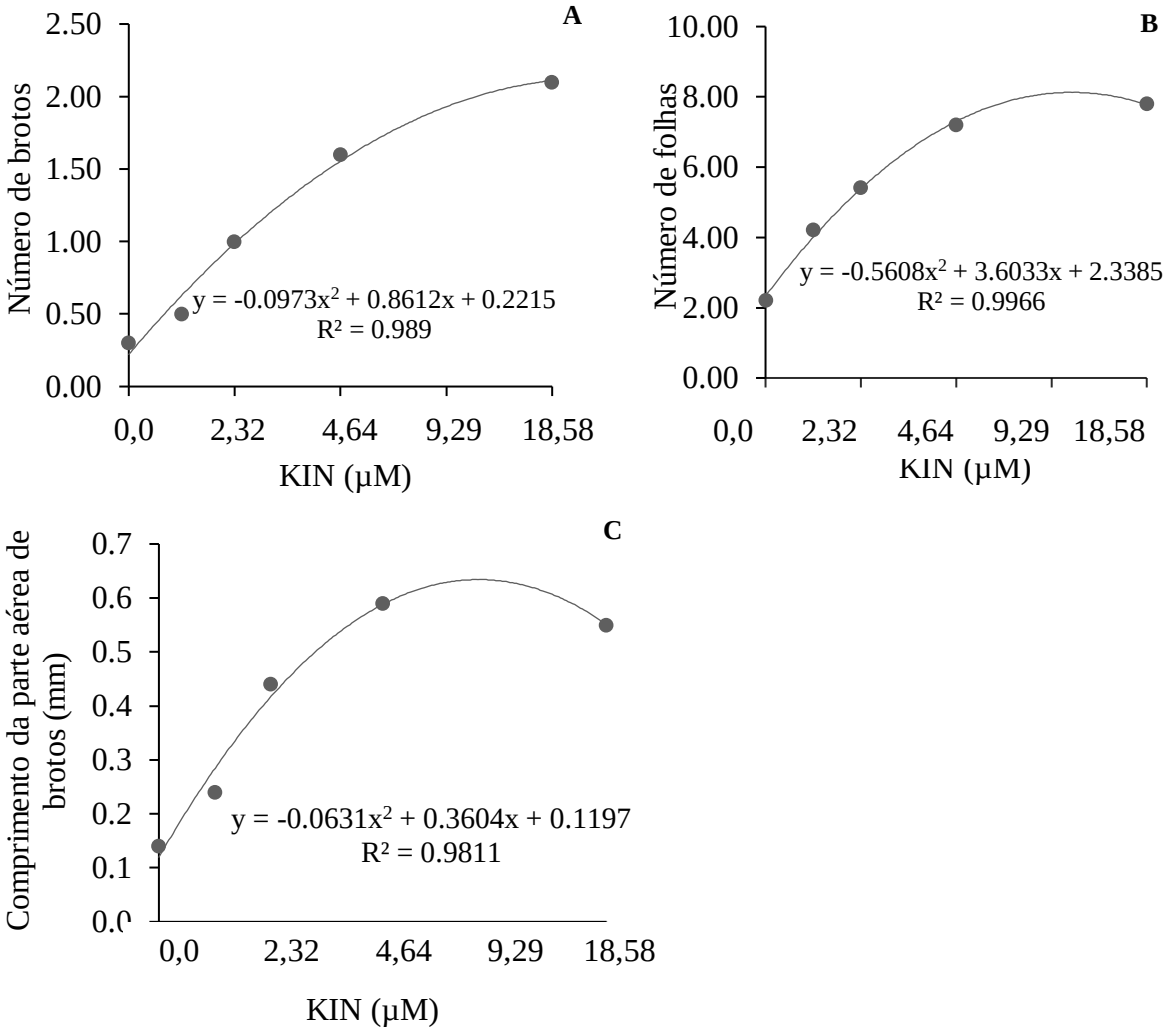


Figura 8. Segmentos nodais de murici-pitanga submetidos a multiplicação *in vitro* em diferentes concentrações de KIN. A. Brotos cultivados *in vitro* em diferentes concentrações de KIN. Da esquerda para a direita 0,14 cm; 0,18 cm; 0,48 cm; 0,50 cm e 0,55 cm de comprimento. B. Presença de calos na base das brotações. Barra=1,0 cm.

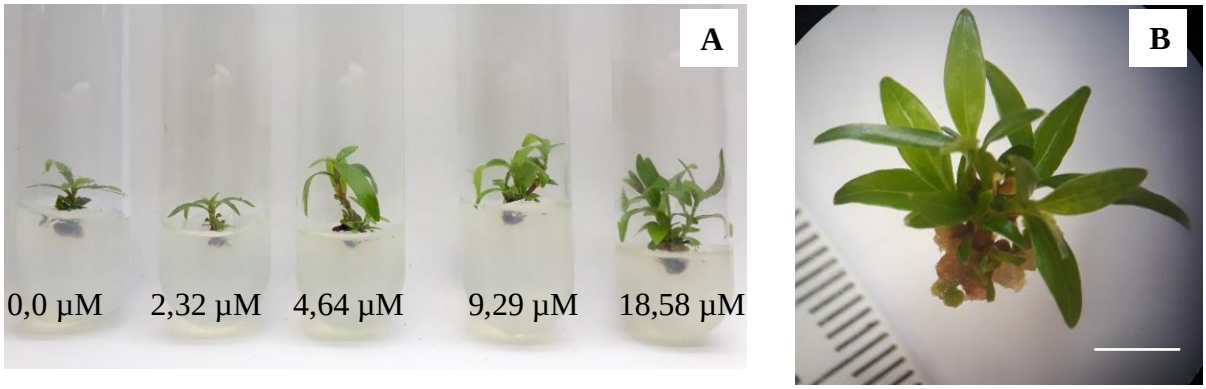


Figura 9. Dados morfométricos de brotos de murici-pitanga *in vitro* submetidos ao enraizamento em diferentes concentrações de ANA ou AIB. A. Enraizamento de brotos (%); B. Número de raiz; C. Comprimento de raiz (cm); D. Número de folhas e E. Massa da matéria fresca de calos (g).

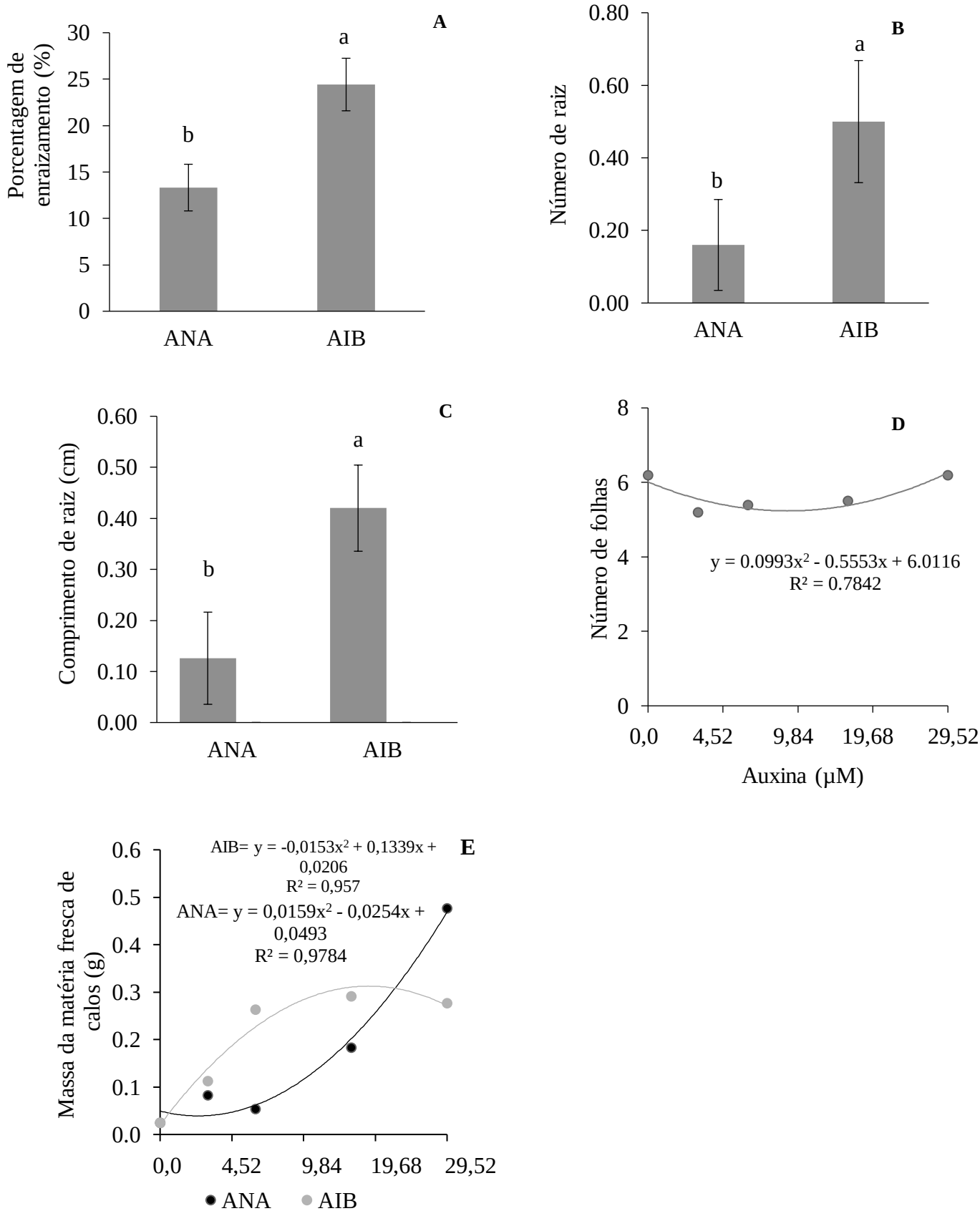
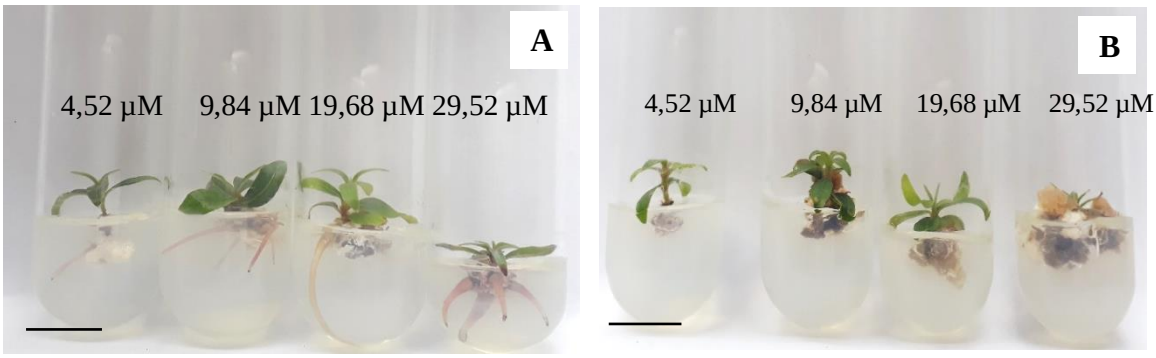


Figura 10. Brotos de murici-pitanga enraizados *in vitro* em diferentes concentrações de ANA ou AIB, com presença de raízes adventícias e calos na base dos explantes. A. Enraizamento de brotos em meio suplementado com AIB. B. Enraizamento de brotos em meio suplementado com ANA. Barra=1,0 cm.



REFERÊNCIAS

Alberto, P. S. *et al*. Methods to overcome of the dormancy in murici seeds (*Byrsonima verbascifolia* Rich). *Semina: Ciências Agrárias*, 32(03), 1015-1020, 2011.

Albino, B. E. S. *et al*. Propagação *in vitro* de Jequitibá-branco (*Cariniana estrellensis*): Uma alternativa para programas de reflorestamento. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, 13(02), 88-99, 2019.

Aragão, A. K. O.; Aloufa, M. A. I.; Costa, I. A. Efeito do BAP (6- benzilaminopurina) sobre a indução de brotos em explantes de pau-brasil. *Cerne*, 17(03), 339-345, 2011.

Bandeira, F. S. *et al*. Aclimatização *ex vitro* de plantas propagadas pela enxertia *in vitro* de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis*. *Revista Árvore*, 3, 773-781, 2007.

Baninelli, M. G. *et al*. Concentração dos sais e da sacarose do meio MS na multiplicação *in vitro* e na aclimatização de batata. *Horticultura Brasileira*, 31, 242-247, 2013.

Barboza, S. B. S. C. *et al.* Anatomia foliar de plantas micropropagadas de abacaxi. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*,41 (02), p.185-194, 2006.

Bensson, J. C. F.; Oliveira, L. K.; Bonett, L. P.; Stefanello, S. Fontes e concentrações de carboidratos no crescimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de *Miltonia flavescens* Lindl. *Revista Brasileira de Biociências*, 8(01), 9 – 13, 2010.

Bezerra, E. S.; Lopes, A. V.; Machado, I. C. Reproductive biology of *Byrsonima gardnerana* A. Juss. (Malpighiaceae) and interactions with *Centris bees* (Centridini) in northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Botany*, 32(01), 95-108, 2009.

Bhojwani, S. S.; Dantu, P. K. Plant Tissue Culture: an Introductory Text. 2013. Disponível em: https://www.springer.com/gp/book/9788132210252. Acesso em: 18 de out. 2019.

Brondani, G. E. *et al*. Estabelecimento, multiplicação e alongamento in vitro de Eucalyptus benthamii Maiden & Cambage x Eucalyptus dunnii Maiden. *Revista Árvore*, Viçosa, 11-19, 2009.

Butt J S. *et al*. Micropropagation in advanced vegetable produciton: a review. *Advancements in Life Sciences*, 2(02), 48-57, 2015.

Campos, V. C. A. *et al*. Micropropagação de umburana de cheiro. *Ciência Rural*, Santa Maria, 43(04), p.639-644, 2013.

Capellades, M.; Lemeur, R.; Debergh, P. Effects of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in Rosa cultured *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and organ Culture*, 25(01), 21 – 26, 1991.

Carvalho, J. M. F. C. *et al*. Embriogênese somática. 1ª ed. Campina Grandre: *Editora Embrapa* 2006.

Carvalho, J. E. U.; Nascimento, W. M. O. Caracterização dos pirênios e métodos para acelerar a germinação de sementes de muruci do clone Açu. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30(03), 775-781, 2008.

Carvalho, J. E. U.; Nascimento, W. M. O. Método para acelerar a germinação de diásporos de murucizeiro. Comunicado técnico, 1ª ed, Belém - PA, *Editora Embrapa*, 2018.

CASTRO, A. H. F.; Alvarenta, A. A.; Paiva, R.; Gomes, G. A. C. Propagação do murici (*Byrsonima verbascifolia*) por cultivo *in vitro* de embriões. *Plant Cell Culture and Micropropagation*, 01(01), 1 – 7, 2005.

Cheng, Z. J. *et al*. Patern of auxin and cytokinin responses for shoot meristema induction results from the regulation of cytokinin biosynthesis by auxin responses fator 3. *Plant Physiology*, 161(01), 240-251, 2013.

Climate-Data.Org. *Clima Paulo Afonso*. Disponível em: https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/bahia/paulo-afonso-880326/>. Acesso em: 18 nov 2019.

Costa, R. Q. *et al*. Desenvolvimento de estacas caulinares de *Byrsonima verbascifolia* tratadas com ácido indolbutírico. *Enciclopédia Biosfera*, 9(16), 689-693, 2013.

Cruciol, G. C. D. *et al*. Aplicação de ácido giberélico e paclobutrazol na cultura da soja. *Revista de Agricultura neotropical*, 1(02), 72 -70, 2014.

Donadio, L. C.; Môro F. V.; Servidone, A. A. Frutas brasileiras. Jaboticabal, SP: *Novos talentos*. 2002.

Fermino Junior, P. C. P.; Scherwinski-Pereira, J. E. Germinação e propagação *in vitro* de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A. C. Smith – Fabaceae). *Ciência Florestal*, 22(01), 1-9, 2012.

Ferreira, D. F. Sisvar: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. Revista Brasileira de Biometria, 37(04), 529-535, 2019.

Fuentes, G. *et al*. Manipulation of abiotic *in vitro* factors to improve the physiology and subsequente field performance of micropropagated plantlets. *Acta Horticulturae*, 748, 77 – 85, 2007.

George, E. F. Plant propagation by tissue culture. Parte 1. *The technology*. *Edington: Exegetics*, 1996.

Grattapaglia, D.; Machado, M. A. Micropropagação. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S.; Buso, J. A. (Eds.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**.** Brasília: *Embrapa*-SPI/Embrapa-CNPH, (1), 1998, p.183-260.

Guilhon-Simplicio, F.; Pereira, M. M. Aspectos químicos e farmacológicos de *Byrsonima* (Malpighiaceae). *Química Nova*, 34(06), 1032-1041, 2011.

Guimarães, M. A. *et al*. Influência de temperatura, luz e giberelina na germinação de sementes de *Thlaspi*

caerulescens J. Presl & C. Presl (Brassicaceae). *Revista Ceres*, 57, (03), 372-376, 2010.

Guimarães, M. M.; silva, M. S. Valor nutricional e características químicas e físicas dos frutos de murici-passa (*Byrsonima verbascifolia*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28, (04), 817-821, 2008.

Ismali, H.; Fiku, H. Olive cultivar propagation based on nebulization method. Albanian *Journal Agricutural Scientia.* 10(22), 18-20, 2010.

Kochba, J. *et al.* Stimulations of rooting of citrus embryoids by gibberellic acids and adenine sulfate. *Annals of Botany*, 38(04),795 – 802, 1974.

Lima, C. S. M. *et al.* Germinação de sementes e crescimento de maracujá em diferentes concentrações do ácido giberélico, tempos de imersão e condições experimentais. *Revista Brasileira de Agrociência*, 15, (1-4), 43 – 48, 2009.

Lloyd, G.; Mccown, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Combined Proceedings, International Plant Propagators Society*, (30), 421- 427, 1980.

Mamede, M. C. H.; Francener, A. *Byrsonima* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8827>. Acesso em 19 de nov. 2019.

Mantovani, N. C.; Franco, E. T. H.; Vestena, S. Regeneração *in vitro* de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel). *Ciência Florestal*, 11(02), 93 – 101, 2001.

Martendal, C. O *et al*. *In vitro* multiplication of nodal segments of "Murici" (*Byrsonima cydoniifolia* A. Juss.): the use of growth regulators and photoautotrophic stimulation. *Journal of Agricultural Technology*, 10(03), 665-678, 2014.

Martendal, C. O. *et al*. *In vitro* cultivation of zygotic embryos from Murici (*Byrsonima cydoniifolia* A. Juss.): establishment, disinfection, and germination. *Acta Scientiarum*. Agronomia, 35(02), 221 – 229, 2013.

Murashige, T.; Skoog, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(03), 473-497, 1962.

Navroski, M. C. *et al*. Alongamento *in vitro* de genótipos de *Eucalyptus dunii* Maiden. *Revista Cerne*, 19(04), 545 – 550, 2013.

Nogueira, R. C. *et al*.Germinação *in vitro* de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). *Ciência e Agrotecnologia*,.28(05), 1053-1059, 2004.

Oliveira, L.S.; Dias, P.C.; Brondani, G.E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. *Pesquisa Florestal Brasileira*, 33(76), 439-453, 2013.

Pádua, M. S. S. *et al*. *In vitro* rooting of tenera hybrid oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) plants. *Revista Árvore*, 41, (04), 1-7, 2014.

Pelizza, T. R. *et al*. Aclimatização e crescimento de plântulas de mirtileiro 'climax' micropropagadas em função do substrato e da cobertura plástica. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(03), 898-905, 2011.

Pereira, G. A.; Boliani, A. C.; Corrêa, L. S. Concentrações de 6-benzilaminopurina e cinetina (CIN) e tempos de cultivo na micropropagação de bananeira 'Thap Maeo'. *Plant Cell Culture Micropropagation*, 10(01), 7-12, 2014.

Pereira, M. O.; Navroski, M. C.; Reiniger, L. R. S. Multiplicação *in vitro* de ipê-amarelo (*Handroanthus chrysotrichus*). Nativa, 03(01), 59-63, 2015.

Pereira, R. C. A. *et al.* Germinação, avaliação do ácido giberélico e posição do explante no alongamento *in vitro* de *Uncaria guianensis* (AUBLET) Gmelin Rubiacae (UNHA-DE-GATO). *Ciência e Agrotecnologia*, 30(04), 637-642, 2006.

Pinheiro, C. S. R. *et al.* Germinação *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Goméz) em diferentes meios de cultura. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23(02), 413 – 416, 2001.

Pio, R. *et al.* Emergência e desenvolvimento de plântulas de cultivares de marmeleiro para uso como porta-enxertos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29(01), 133 – 136, 2007.

Pio, R. *et al.* Concentrações de ácido giberélico e períodos de estratificação na emergência do porta-enxerto de marmeleiro 'Japonês' (*Chaenomeles sinensis*). *Revista Brasileira de Sementes*, 32(04), 125 – 131, 2010.

Radmann, E. B. *et al.* (2014) Enraizamento *in vitro* e aclimatização do porta-enxerto de ameixeira 'MR.S. 2/5'. *Plant Cell Culture Micropropagation*, 10(02), 21-31, 2014.

Restelatto, C. P.; Gerber, T.; Sartoretto, L. M. Germinação e Multiplicação de cravo utilizando BAP e CIN *in vitro*. *Scientific Eletronic Archives*, v.7, 81-88, 2014.

Rossato, M. *et al.* Multiplicação e enraizamento *in vitro* de garirobeira. Plant Cell *Culture Micropropagation*, 11(02), 70-77, 2015.

Sá, F. S. et al. In vitro Plantlets Regeneration from Nodal Segments of Murici (Byrsonima gardneriana). Journal of Agricultural Science, 10(04), 402-408, 2018.

Sannomiya, M. et al. Flavonóides e atividade antiulcerogênica de extratos de folhas de Byrsonima crassa. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(01),1-6, 2005.

Santos, A. S. *et al.* Enraizamento de estacas de murici (*Byrsonima gardneriana* A. Juss.) utilizando ácido indolbutírico na produção de mudas. *Brazilian Journal of Development*, 5(11), 26245-26263, 2019.

Santos, C. A. C. *et al.* Germinação de sementes e vigor de plântulas de maracujazeiro amarelo submetidos à ação do ácido giberélico. *Bioscience Journal*, 29(02), 400 – 407, 2013.

Silva, T. S. *et al.* Multiplicação *in vitro* de *Caesalpinia pyramidalis* (Leguminosae). *Scitientibus série Ciências Biológicas*, v.13, 1-6, 2014.

Silva, A. L. L. *et al.* Micropropagation of *Nidularium innocentii* Lemand *Nidularium procerum* Lin Dm. (Bromeliaceae). *Pakistan Journal of Botany*, 44(03), 1095 – 1101, 2012.

Simões, M. A. *et al.* Efeito do ácido giberélido (AG3) no alongamento *in vitro* de plântulas de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) durante a micropropagação. *Amazônia: Ciência & Desenvolvimento*, Belém – PA, v.7, n.14, p.33 – 41, 2012.

Soares, T. C. *et al.* Quitosana e fitorreguladores na indução da organogênese direta em cultivar de algodão colorido. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 18(08), 839-843, 2014.

.

Souto, L. S.; Oliveira, D. T. Morphology, anatomy, and development of *Byrsonima intermedia* A. Juss. (Malpighiaceae) fruit and seed. *Revista Brasileira de Botânica*, v.28, n.4, p.697-712, 2005.

Souza, A. V.; Pereira, A. M. S. Enraizamento de plantas cultivadas *in vitro. Revista Brasileira Plantas Medicinais*. 9(04)103-117, 2007.

Stein, V. C. *et al*. Germinação *in vitro* e *ex vitro* de *Inga vera* Willd. Subesp. Affinis (DC.) T. D. Penn. *Ciência e Agrotecnologia*, 31(06), 1702 – 1708, 2007.

Taiz, L., Zeiger, E. Fisiologia vegetal**.** 5ª ed. *Editora Artmed*, 2013.

Torres, A. C. *et al.* Efeito da sacarose, cinetina, isopentenil adenina e zeatina no desenvolvimento de embriões de *Heliconia rostrata in vitro*. *Horticultura Brasileira*, 23(03), 789 – 792, 2005.

Wedling, I.; Dutra, L. F.; Grossi, F. Produção de mudas de espécies lenhosas**.** Colombo: *Embrapa Florestas*, 2006.

Xavier, A.; Wendling, L.; Silva, R. L. Silvicultura clonal: princípios e técnicas. 2 ed., Viçosa, *Editora da UFV*, 2013.

Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) agência 001, pela conceção das bolsas de estudo e auxílio financeiro para realização dessa pesquisa.

© 2025 Revista Ouricuri. Todos os direitos reservados.