

# AÇÃO DA 6-BENZILAMINOPURINA E DA QUALIDADE DA LUZ NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE MACIEIRA (*Malus domestica* BORKH.) CVS. GALAXY E MASTERGALA

ACTION OF THE 6-BENZYLAMINOPURINE AND OF THE LIGHT QUALITY ON THE "IN VITRO" MULTIPLICATION OF APPLE TREE (*Malus domestica* BORKH.) CVS. GALAXY AND MASTERGALA

Alan Cristiano Erig<sup>1</sup>; Márcia Wulff Schuch<sup>2</sup>

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar a ação do BAP (6-benzilaminopurina) e da qualidade da luz na multiplicação *in vitro* de macieira (*Malus domestica* Borkh.). Os tratamentos consistiram de duas cultivares de macieira (Galaxy e Mastergala), de duas concentrações de BAP (0 e 4,4  $\mu\text{M}$ ), e de cinco diferentes qualidades de luz (branca, amarela, vermelha, azul e verde), totalizando 20 tratamentos no delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2x5. O meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) com o nitrogênio reduzido a  $\frac{3}{4}$  de sua concentração original, acrescido de mio-inositol (100 mg L<sup>-1</sup>), sacarose (40 g L<sup>-1</sup>), ágar (6 g L<sup>-1</sup>), e adicionado de BAP, conforme o tratamento. As diferentes qualidades da luz foram fornecidas envolvendo os frascos contendo os explantes com uma volta completa de papel celofane das cores utilizadas nos tratamentos, com exceção para a luz branca, onde o frasco não foi envolto pelo papel. Aos 35 dias de cultivo, foram avaliados o número de gemas, o número de brotos, o comprimento dos brotos e o comprimento do broto mais desenvolvido. A partir do número de gemas, determinou-se a taxa de multiplicação. Concluiu-se que, o BAP é indispensável para a multiplicação *in vitro* de macieira cvs. Galaxy e Mastergala; a luz vermelha e a branca com 4,4  $\mu\text{M}$  de BAP no meio de cultura, possibilitam a obtenção dos melhores resultados para o número médio de gemas e para a taxa de multiplicação; e a luz amarela proporcionou maior comprimento do broto mais desenvolvido na cv. Mastergala.

**Palavras-chave:** cultura de tecidos, citocinina, BAP, espectro luminoso, micropropagação.

## ABSTRACT

An experiment was conducted to study the effect of BAP (6-benzylaminopurine) and light quality on the *in vitro* multiplication of apple tree (*Malus domestica* Borkh.). The treatments were: two apple tree cultivars (Galaxy and Mastergala), two concentrations of BAP (0 and 4.4  $\mu\text{M}$ ), and five light qualities (white, yellow, red, blue and green), with a total of 20 treatments. A completely randomized design with a 2x2x5 factorial arrangement was used. The culture medium used was the MS with nitrogen reduced to  $\frac{3}{4}$  of its original concentration, with the addition of myo-inositol (100 mg L<sup>-1</sup>), sucrose (40 g L<sup>-1</sup>), agar (6 g L<sup>-1</sup>), and BAP, according to the respective treatment. The different light qualities were supplied by wrapping the flasks containing the explants with a complete turn of cling film of the colors used in the treatments, except for the white light, where the flask was not wrapped up with paper. At the day 35, the number of buds, the number of shoots, the length of shoots and the length of the more developed shoot were evaluated. The multiplication rate was determined starting from the number of buds. It is concluded that BAP is indispensable for the *in vitro* multiplication of apple tree cvs. Galaxy and Mastergala; the best results for the average number of buds and

for the multiplication rate were obtained with the red and the white light with 4.4  $\mu\text{M}$  of BAP in the culture medium; and the yellow light provided the highest length of the most developed shoot in the cv. Mastergala.

**Key words:** tissue culture, cytokinin, BAP, luminous spectrum, micropropagation.

## INTRODUÇÃO

A 'Gala', a 'Fuji' e seus mutantes são as principais cultivares de maçã produzidas no Brasil e, felizmente, estão entre as que têm maior valor comercial em todo o mundo. Novas cultivares estão sendo introduzidas, desenvolvidas e avaliadas no País (HAUAGGE, 2003), devido, principalmente, ao mercado que exige um produto sempre de melhor qualidade.

A busca por mutações somáticas da cultivar Gala visa, principalmente, a obtenção de frutos uniformemente coloridos, mesmo aqueles sombreados (CAMILO & DENARDI, 2002). A 'Galaxy' e a 'Mastergala' são duas, dentre as cultivares de macieira atualmente difundidas no mundo, originadas de mutações a partir da 'Gala'.

Nas plantas propagadas vegetativamente, como a macieira, uma vez confirmada a superioridade de indivíduos selecionados, a cultura de tecidos pode ser empregada para a propagação *in vitro* em escala comercial (FERREIRA et al., 1998).

A luz é um fator fundamental na vida das plantas, exercendo função direta ou indireta na regulação de seu crescimento e desenvolvimento (MORINI & MULEO, 2003), e as respostas da planta não dependem apenas de ausência ou presença de luz, mas também de variação em qualidade luminosa (FELIPPE, 1986).

Poucos estudos têm sido realizados buscando compreender o efeito da qualidade da luz no crescimento e no desenvolvimento dos tecidos cultivados *in vitro*, bem como na síntese e no transporte das citocininas (MORINI & MULEO, 2003).

As citocininas são utilizadas para quebrar a dominância apical dos brotos, e aumentar a taxa de multiplicação. Entre as mais utilizadas, está a 6-benzilaminopurina (BAP). Sua adição na concentração de 4,4  $\mu\text{M}$  ao meio de cultura constituído de sais de MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) foi fundamental para o crescimento e o desenvolvimento dos meristemas e também para o desenvolvimento de gemas axilares de macieira cv. McIntosh (LANE, 1978).

<sup>1</sup> Engenheiro Agrônomo, M.Sc., Doutorando do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fruticultura de Clima Temperado, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPel. Cx. P. 354, CEP 96.010-900. Pelotas - RS. Bolsista CAPES. E-mail: acerig@ufpel.tche.br \*

<sup>2</sup> Engenheira Agrônoma, Dr<sup>a</sup>., Professora do Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPel. Cx. P. 354, CEP 96.010-900. Pelotas - RS. E-mail: marciaws@ufpel.tche.br  
Apio do MCT/CNPq.

(Recebido para Publicação em 30/09/2003, Aprovado em 13/04/2006)

Para a indução, o crescimento e o desenvolvimento de brotos axilares de *Prunus* GF 655-2, BARALDI et al. (1988) verificaram que a 6-benziladenina (BA) foi muito eficiente. No entanto, os mesmos autores observaram que sua ação não foi evidenciada no escuro, mas somente na presença de luz branca, azul ou vermelha. Na ausência de citocinina, ainda no mesmo trabalho, a proliferação de brotos em culturas tratadas com as diferentes qualidades da luz foi praticamente anulada, demonstrando que estes dois fatores, luz e citocinina, são indispensáveis para que os processos anteriormente citados ocorram.

Segundo NORTON et al. (1988), o efeito da luz difere em função da concentração de BA utilizada no meio de cultura. Na concentração ótima de BA para o cultivo de plantas lenhosas ornamentais, a luz branca proporcionou melhores resultados comparados àqueles obtidos com a luz azul ou vermelha. Por outro lado, os mesmos autores verificaram que quando a concentração de citocinina utilizada no meio de cultura foi abaixo da ótima, a produção de brotos axilares foi superior nas culturas tratadas com luz vermelha.

O objetivo deste trabalho foi estudar a necessidade de uso do BAP e a ação da qualidade da luz na multiplicação *in vitro* de macieira (*M. domestica* Borkh.) cvs. Galaxy e Mastergala.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos de Plantas, do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia, da Universidade Federal de Pelotas, RS. Os explantes constituíram-se de segmentos caulinares com duas gemas, sem o ápice, e com comprimento de 0,6 a 1cm, provenientes de brotações de macieira cultivadas *in vitro*.

Os tratamentos consistiram de duas cultivares de macieira (Galaxy e Mastergala), de duas concentrações de BAP (0 e 4,4  $\mu$ M), e de cinco diferentes qualidades da luz (branca, amarela, vermelha, azul e verde), totalizando 20 tratamentos.

O meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) com o nitrogênio reduzido a  $\frac{3}{4}$  de sua concentração original, acrescido de 100 mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol, 40 g L<sup>-1</sup> de sacarose, e adicionado de BAP, conforme o tratamento. O pH foi ajustado para 5,8, antes da inclusão do ágar na concentração de 6 g L<sup>-1</sup> e, posteriormente, autoclavado a 121 °C e 1,5 atm por 15 minutos. Foram utilizados frascos com 30 mL de meio de cultura.

As diferentes qualidades da luz foram fornecidas envolvendo os frascos contendo os explantes com uma volta completa de papel celofane das cores utilizadas nos tratamentos (amarela, vermelha, azul e verde), com exceção para a luz branca, onde o frasco não foi envolto pelo papel. Após a inoculação, os frascos com os explantes foram mantidos em sala de crescimento com 16 horas de fotoperíodo, temperatura de 25  $\pm$  2 °C e densidade de fluxo de fótons do período de luz de 42  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fornecido por lâmpadas fluorescentes brancas-frias.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x2x5, com quatro repetições por tratamento. Cada repetição se constituiu de um frasco com cinco explantes. Aos 35 dias de cultivo, foram avaliados o número de gemas, o número de brotos, o comprimento dos brotos e o comprimento do broto mais desenvolvido. A partir do número de gemas, determinou-se a taxa de multiplicação, dividindo-se o número de gemas por explante, obtido aos 35 dias de cultivo, pelo número inicial de

gemas do explante, no início do experimento. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Duncan, por meio do uso do pacote estatístico SANEST (ZONTA & MACHADO, 1987). Os dados do número médio de gemas, do número médio de brotos e da taxa de multiplicação foram transformados segundo raiz quadrada de (x + 0,5), onde x é o número obtido.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para o número médio de gemas e para a taxa de multiplicação, verificou-se que a cv. Mastergala apresentou resultados superiores (4,33 e 2,18, respectivamente), comparados àqueles obtidos com a cv. Galaxy (3,91 gemas e 1,97 de taxa de multiplicação) (Tabela 1). Segundo NICOLOSO et al. (2001), durante a micropropagação, subcultivos seqüenciais do material vegetal em um meio de cultivo novo podem resultar em taxas de multiplicação entre 2 e 10 novos explantes por cultura. Diferenças entre cultivares de macieira também foram observadas por YAO et al. (1995), que relatam que, em distintas cultivares, a taxa de regeneração é variável. Para que se obtenha sucesso no processo de micropropagação, existe a necessidade de se ajustar, para cada espécie e/ou cultivar, as melhores condições de cultivo (ZIMMERMAN, 1981).

Tabela 1 – Número médio de gemas e taxa de multiplicação de brotos de macieira cvs. Mastergala e Galaxy, aos 35 dias de cultivo *in vitro*. UFPel, Pelotas, RS, 2003.

Cultivar	Número médio de gemas *	Taxa de multiplicação *
Mastergala	4,33a	2,18a
Galaxy	3,91b	1,97b
Média	2,15	1,60
CV (%)	8,36	7,49

\* Médias não seguidas de mesma letra, diferem pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade de erro.

Sem adicionar o BAP no meio de cultura (0 $\mu$ M), os resultados obtidos tanto para o número médio de gemas, como para a taxa de multiplicação, foram iguais com todas as qualidades de luz utilizadas (Tabela 2), indicando que nenhuma destas apresenta algum efeito que possa substituir o BAP, mantendo ou aumentando a eficiência da multiplicação. Resultados semelhantes foram encontrados por BARALDI et al. (1988), que cultivaram microestacas de *Prunus* GF 655-2 durante quatro semanas no escuro ou sob luz azul, vermelha ou vermelha longo, em meio de cultura sem BA, e não obtiveram formação de brotos, e verificaram que não houve diferença entre as qualidades da luz. Porém, LUCA et al. (2001), concluíram que para obter a maior taxa de multiplicação de plântulas de *Alternanthera brasiliana* L., uma planta medicinal, a mesma deve ser cultivada em meio de cultura sem fitohormônios e sob luz azul ou verde.

Com 4,4  $\mu$ M de BAP no meio de cultura, tanto o número médio de gemas como a taxa de multiplicação, foram superiores com a luz vermelha e a branca (Tabela 2). No cultivo *in vitro* de porta-enxerto de *Prunus* clone I.S. 5/14, o maior número médio de gemas por broto também foi obtido utilizando a luz vermelha (ROSSI et al., 2002). Já BARALDI et al. (1988) obtiveram os melhores resultados para a taxa de proliferação de *Prunus* GF 655-2 cultivados em meio de cultura com 2,7  $\mu$ M de BA, utilizando luz branca (taxa de

proliferação de 5,5), enquanto que a luz vermelha e a azul mostraram resultados inferiores (taxa de proliferação de 4,5 e 4,8, respectivamente).

Independentemente da qualidade da luz utilizada, os melhores resultados para ambas as variáveis, foram obtidos utilizando 4,4 µM de BAP no meio de cultura, comparado a 0 µM de BAP (Tabela 2 e Figura 1), o que indica que este fitoregulador é indispensável para quebrar a dominância apical dos brotos de macieira das cvs. Galaxy e Mastergala, e aumentar sua taxa de multiplicação. LEE & KO (1984) também verificaram que a citocinina é essencial para a fase de

multiplicação na micropropagação de macieira cv. Fuji, pois, sem a sua inclusão ao meio de cultura, não houve proliferação de brotações.

Nas duas cultivares de macieira, resultados superiores para o comprimento médio dos brotos e para o comprimento do broto mais desenvolvido, foram obtidos utilizando-se 4,4 µM de BAP no meio de cultura (Tabela 4). Sem o BAP adicionado ao meio de cultura (0 µM), não houve diferença significativa entre as duas cultivares para ambas as variáveis. Já com 4,4 µM de BAP, resultados superiores foram obtidos com a cv. Mastergala comparados àqueles obtidos com a 'Galaxy'.

Tabela 2 - Número médio de gemas e taxa de multiplicação de brotos de macieira, aos 35 dias de cultivo *in vitro*, em função da concentração de BAP no meio de cultura e da qualidade da luz. UFPel, Pelotas, RS, 2003.

Qualidade da luz	Número médio de gemas *		Taxa de multiplicação *	
	0µM BAP	4,4µM BAP	0µM BAP	4,4µM BAP
Vermelha	2,47aB	7,26aA	1,23aB	3,63aA
Branca	2,27aB	7,15aA	1,13aB	3,59aA
Amarela	2,50aB	6,11bA	1,25aB	3,06bA
Azul	2,19aB	5,65bA	1,10aB	2,83bA
Verde	2,27aB	5,56bA	1,13aB	2,78bA
Média		2,15		1,60
CV (%)		8,36		7,49

\* Médias não seguidas de mesma letra minúscula para mesma concentração de BAP e maiúscula entre concentrações de BAP, diferem pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade de erro.

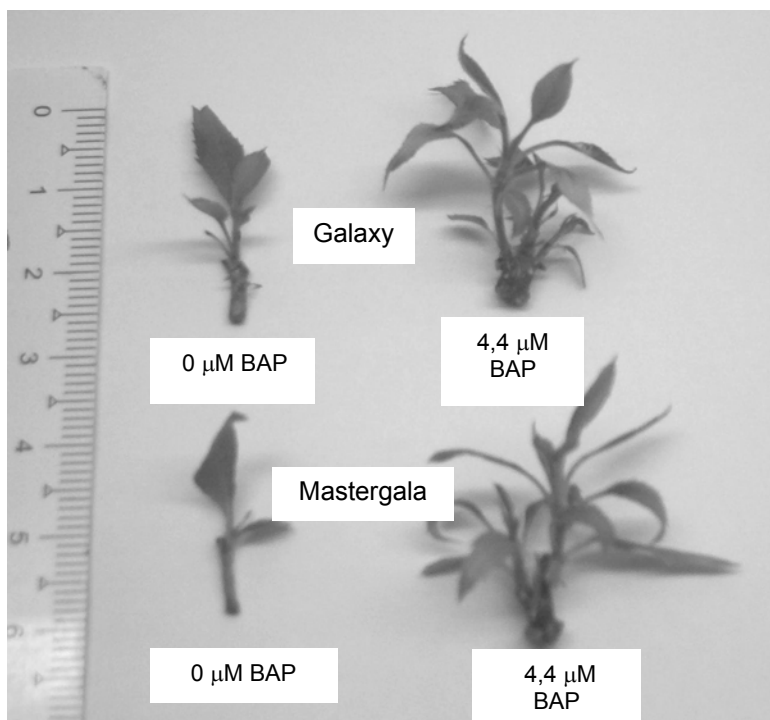


Figura 1 – Aparência dos brotos de macieira das cvs. Galaxy e Mastergala, aos 35 dias de cultivo *in vitro*, em meio de cultura adicionado de 0 ou 4,4 µM de BAP. UFPel, Pelotas, RS, 2003.

Para o número médio de brotos, da mesma forma que o observado para o número médio de gemas e taxa de multiplicação, os melhores resultados foram obtidos com 4,4 µM de BAP no meio de cultura comparado a 0 µM de BAP (Tabela 3), com exceção para a cv. Mastergala submetida à luz vermelha e a luz verde, quando não houve diferença entre as duas

concentrações de BAP utilizadas. Isto ocorreu nesta cultivar, não pelo fato da luz vermelha e da luz verde ter mostrado algum efeito positivo que possa ter substituído o efeito do BAP, mas em virtude do efeito do BAP não ter sido expresso no número médio de brotos com essas qualidades da luz. Apesar disto, MORINI & MULEO (2003) mencionam que no

cultivo *in vitro* do porta-enxerto de macieira MM106, a luz verde, acima de todas, proporcionou a maior taxa de proliferação de brotos. LUCA et al. (2001) verificaram que as plântulas de *A. brasiliiana* L. que se desenvolveram sob luz

azul e verde formaram até quatro brotos por explante, enquanto que em todos os outros tratamentos (vermelha, branca e escuro) o número de brotos por explante foi de apenas dois.

Tabela 3 – Número médio de brotos de macieira cvs. Mastergala e Galaxy, aos 35 dias de cultivo *in vitro*, em função da cultivar, da concentração de BAP no meio de cultura e da qualidade da luz. UFPel, Pelotas, RS, 2003.

Qualidade da luz	Número médio de brotos *			
	cultivar			
	Mastergala		Galaxy	
	0µM BAP	4,4µM BAP	0µM BAP	4,4µM BAP
Vermelha	1,19aAa	1,42aAb	0,67aBb	2,25aAa
Verde	1,02aAa	1,54aAa	0,58aBa	2,19aAa
Amarela	0,86aBa	2,04aAa	0,77aBa	1,87aAa
Branca	0,86aBa	2,04aAa	1,00aBa	2,08aAa
Azul	0,78aBa	1,94aAa	0,64aBa	2,07aAa
Média	1,36			
CV (%)	11,27			

\* Médias não seguidas de mesma letra minúscula para mesma cultivar e concentração de BAP, maiúscula entre concentrações de BAP para mesma cultivar, e minúscula itálico para mesma concentração entre cultivares, diferem pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade de erro.

Tabela 4 - Comprimento médio dos brotos (cm) e comprimento do broto mais desenvolvido (cm) de macieira cvs. Mastergala e Galaxy, aos 35 dias de cultivo *in vitro*, em função da cultivar e da concentração de BAP no meio de cultura. UFPel, Pelotas, RS, 2003.

Cultivar	Comprimento médio dos brotos (cm) *		Comprimento do broto mais desenvolvido (cm) *	
	0µM BAP	4,4µM BAP	0µM BAP	4,4µM BAP
Mastergala	0,14aB	0,70aA	0,15aB	0,98aA
Galaxy	0,11aB	0,46bA	0,11aB	0,63bA
Média	0,35		0,47	
CV (%)	45,50		53,67	

\* Médias não seguidas de mesma letra minúscula para mesma concentração de BAP e maiúscula entre concentrações de BAP, diferem pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade de erro.

O que se observou neste trabalho, foi uma superioridade da cv. Mastergala em relação à cv. Galaxy, para o número médio de gemas, para a taxa de multiplicação, para o comprimento médio dos brotos e para o comprimento do broto mais desenvolvido, apesar de ambas serem originadas de mutações da cv. Gala. Isto mostra a importância de se estabelecer as melhores condições de cultivo não só para diferentes espécies ou gêneros, mas também para diferentes cultivares dentro de uma espécie.

Em relação à qualidade da luz, verificou-se que na cv. Mastergala a luz amarela proporcionou o melhor resultado para o comprimento do broto mais desenvolvido (0,88 cm), não havendo diferença significativa entre as qualidades da luz para a cv. Galaxy (Tabela 5). A luz amarela também proporcionou maior comprimento do broto mais desenvolvido na cv. Mastergala comparado à cv. Galaxy, não havendo diferença entre as cultivares para as outras qualidades da luz.

Tabela 5 - Comprimento do broto mais desenvolvido (cm) de macieira cvs. Mastergala e Galaxy, aos 35 dias de cultivo *in vitro*, em função da cultivar e da qualidade da luz. UFPel, Pelotas, RS, 2003.

Qualidade da luz	Comprimento do broto mais desenvolvido (cm) *	
	cv. Mastergala	cv. Galaxy
Amarela	0,88aA	0,35aB
Branca	0,61bA	0,50aA
Vermelha	0,58bA	0,37aA
Azul	0,40bA	0,32aA
Verde	0,35bA	0,33aA
Média	0,47	
CV (%)	53,67	

\* Médias não seguidas de mesma letra minúscula para mesma cultivar e maiúscula entre cultivares, diferem pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade de erro.

Resultados semelhantes foram obtidos por ROSSI et al. (2002) para o clone I.S. 5/18 de porta-enxerto para *Prunus*, onde o melhor resultado para o comprimento médio das brotações e para o comprimento médio dos entrenós foi obtido com luz incandescente. FARINA et al. (2001) observaram que

com suplemento de luz incandescente houve um aumento no comprimento dos entrenós do eixo principal e no comprimento dos eixos laterais de Áster cv. Butterfly. MORINI & MULEO (2003) mencionam que no cultivo *in vitro* dos porta-enxertos de macieira MM106 e M-9, a luz amarela também mostrou um

bom efeito, porém, sobre a produção de brotos. No entanto, pondera-se que, além de poucos trabalhos terem sido realizados buscando estudar o efeito da qualidade da luz no crescimento e desenvolvimento dos tecidos cultivados *in vitro*, não foram encontradas alusões na literatura explicando como se dá este efeito.

## CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que: (i) o BAP é indispensável para a multiplicação *in vitro* de macieira cvs. Galaxy e Mastergala; (ii) a luz vermelha e a branca com 4,4 $\mu$ M de BAP no meio de cultura, possibilitam a obtenção dos maiores resultados para o número médio de gemas e para a taxa de multiplicação nas cultivares Galaxy e Mastergala; e (iii) a luz amarela proporciona maior comprimento do broto mais desenvolvido na cv. Mastergala.

## REFERÊNCIAS

- BARALDI, R.; ROSSI, F.; LERCARI, B. *In vitro* shoot development of *Prunus* GF 655-2: interaction between light and benzyladenine. **Physiologia Plantarum**, København, v.74, p.440-443, 1988.
- CAMILO, A.P.; DENARDI, F. Cultivares: Descrição e comportamento no sul do Brasil. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis: Epagri, 2002. p.113-168.
- FARINA, E.; DALLA GUDA, C.; SCORDO, E. Effetti morfogenetici della illuminazione ad incandescenza su Aster cv. Butterfly. **Italus Hortus**, Firenze, v.8, n.1, p.39-42, 2001.
- FELIPPE, G.M. Fotomorfogênese. In: FERRI, M.G. (coord.) **Fisiologia Vegetal 2**. São Paulo: EPU, 2.ed., 1986. p.231-280.
- FERREIRA, M.E.; CALDAS, L.S.; PEREIRA, E.A. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: SPI/Embrapa – CNPH, v.1, 1998. p.21-43.
- HAUAGGE, R. Variedades de macieira para o Brasil: novas cultivares, e estratégias do melhoramento genético para o seu desenvolvimento futuro. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 6., 2003, Fraiburgo, SC. **Anais...** Caçador: Epagri, 2003. p.254.
- LANE, W.D. Regeneration of apple plants from shoot meristem tips. **Plant Science Letters**, Limerick, v.13, p.281-285, 1978.
- LEE, H.J.; KO, K.C. Effects of culture media and plant hormones on shoot tip culture of Fuji apple cultivar (*Malus domestica*). **Seoul National University Journal of Agricultural Sciences**, Seoul, v.9, n.1, p.67-77, 1984.
- LUCA, R.L.; MACEDO, A.F.; CECHINEL, V.F. et al. Ação de diferentes faixas do espectro luminoso na otimização da produção de *Alternanthera brasiliana* L., uma planta medicinal. In: ENCUESTRO LATINOAMERICANO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 4., 2001, Goiânia, GO. **Anais...** Goiânia: Redbio, 2001. 6p. 1 CD.
- MORINI, S.; MULEO, R. Effects of light quality on micropropagation of woody species. In: JAIN, S.M.; ISHII, K. **Micropropagation of woody trees and fruits**. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 2003. p.3-35.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biosay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, København, v.15, p.473-497, 1962.
- NICOLOSO, F.T.; ERIG, A.C.; MARTINS, C.F. et al. Micropropagação do Ginseng Brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.3, n.2, p.11-18, 2001.
- NORTON, C.R.; NORTON, M.E.; HERRINGTON, T. Light quality and the control of shoot length in woody ornamental plants grown *in vitro*. **Acta Horticulturae**, The Hague, n.227, p.453-456, 1988.
- ROSSI, A.; RUFATO, L.; FIASCHI, G. et al. Efeito de diferentes tratamentos de luz na micropropagação de porta-enxertos para *Prunus* spp. da série de clones I.S. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém, PA. **Anais...** Belém: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2002. 5p. 1 CD.
- YAO, J.L.; COHEN, D.; ATKINSON, R. et al. Regeneration of transgenic plants from the commercial apple cultivar Royal Gala. **Plant Cell Reports**, New York, v.14, n.7, p.407-412, 1995.
- ZIMMERMAN, R.H. Micropropagation of fruit plants. **Acta Horticulturae**, The Hague, n.120, p.217-222, 1981.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **SANEST – Sistema de análise estatística para microcomputadores**. Pelotas: DMEC/IFM/UFPel, 1987. 138p.