

## Teores de ferro e zinco em explantes de *Corymbia citriodora*

Iron and zinc contents in explants of *Corymbia citriodora*

Ângela Simone Freitag Lima<sup>1\*</sup>, Antônio Natal Gonçalves<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciências Florestais, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, Universidade de São Paulo – USP, Piracicaba, SP, Brasil. Autor para correspondência: drangelafloresta@gmail.com

### RESUMO

Com o crescente plantio de *Corymbia citriodora* var. 20 no Brasil, o emprego de técnicas como a micropropagação, aliada ao estudo dos efeitos de novos fitorreguladores e sua ação sobre os nutrientes, tornam-se fundamentais para a obtenção de mudas saudáveis e viáveis fisiologicamente. Este trabalho teve por objetivo avaliar os teores de ferro e zinco presentes em explantes de *Corymbia citriodora* var. 20 *in vitro*, bem como a taxa de crescimento relativo (TCR), mediante uso de quatro fitorreguladores de crescimento. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com os seguintes tratamentos: T0 (sem adição de fitorreguladores no meio de cultura); T1, T2, T3 e T4 com adição de 6-benzilaminopurina (BAP), thidiazuron (TDZ), tiourea e calcicocianamida no meio de cultura, respectivamente, em quatro doses (1,1; 2,2; 4,4 e 8,8  $\mu\text{mol}$ ) por tratamento, com três repetições, avaliados aos 42 dias após instalação. Os explantes foram pesados, secos em estufa e posteriormente moídos, para determinação dos teores de ferro e zinco e cálculo da taxa de crescimento relativo (TCR) de cada tratamento, mediante teor de matéria seca em estufa. Os maiores teores de ferro e zinco foram verificados com a dosagem 8,8  $\mu\text{mol. L}^{-1}$  para todos os tratamentos. Já a TCR foi maior significativamente, nos experimentos com BAP nas dosagens de 2,2 e 4,4  $\mu\text{mol. L}^{-1}$ . A partir das análises constatou-se que os maiores teores de Fe e Zn foram verificados nos tratamentos com aplicação de 8,8  $\mu\text{mol. L}^{-1}$  de BAP (6-benzilaminopurina) e TDZ e BAP e tiourea, respectivamente, em explantes de *Corymbia citriodora* var. 20 *in vitro*.

**Palavras-chave:** eucalipto, fitorreguladores sintéticos, meio de cultura, multiplicação.

### ABSTRACT

With the growing planting of *Corymbia citriodora* var. 20 in Brazil, the use of techniques such as micropropagation, combined with the study of the effects of new phyto regulators and their action on nutrients, become fundamental for obtaining healthy and physiologically viable seedlings. The objective of this work was to evaluate iron and zinc levels in explants of *Corymbia citriodora* var. 20 *in vitro*, as well as the relative growth rate (TCR), using four growth regulators. The experimental design used was in randomized blocks, with the following treatments: T0 (without addition of phyto regulators in the culture medium); (BAP), thidiazuron (TDZ), thiourea and calcium cyanamide in the culture medium, respectively, in four doses (1,1; 2,2; 4,4 and 8,8  $\mu\text{mol. L}^{-1}$ ) by treatments, with three replicates, evaluated at 42 days after installation. The explants were weighed, dried in an oven and then milled to determine the iron and zinc contents and calculation of the relative growth rate (TCR) of each treatment. The highest iron and zinc contents were verified with the 8.8  $\mu\text{mol. L}^{-1}$  dosage for all treatments. The TCR was significantly higher in the BAP experiments at 2.2 and 4.4  $\mu\text{mol. L}^{-1}$ . From the analyzes it was verified that the highest Fe and Zn contents were verified in the treatments with application of 8.8  $\mu\text{mol. L}^{-1}$  of BAP (6-benzylaminopurine) and TDZ and BAP and thiourea, respectively, in explants of *Corymbia citriodora* var. 20 *in vitro*.

**Keywords:** eucalyptus, synthetic phyto regulators, culture medium, multiplication.



## INTRODUÇÃO

A micropropagação é uma ferramenta de grande utilidade no setor florestal, pois possibilita a formação e manutenção de microjardins clonais, a partir de clones rejuvenescidos, permitindo a propagação de genótipos de interesse (Brondani et al., 2012; Oliveira et al., 2016). A estaquia convencional tem sido utilizada para a manutenção de jardins clonais de eucalipto, porém, com esta técnica, o percentual de enraizamento de alguns clones é geralmente baixo (Alfenas et al., 2004).

Para a miniestaquia também se observa a falta de resultados satisfatórios quanto ao enraizamento, por se tratar de uma espécie considerada recalcitrante, apresentando índices inferiores aos desejados na produção de mudas clonais (De Oliveira et al., 2012). Devido a essas dificuldades, há poucos relatos sobre regeneração de plantas a partir de mudas ou materiais de alguns clones de eucalipto como, por exemplo, a *Corymbia citriodora*.

O interesse na introdução da miniestaquia para diversas espécies se relaciona à redução da área produtiva (adoção do minijardim) (Higashi et al., 2002), propagação de genótipos de difícil enraizamento, com ampliação da porcentagem de miniestacas enraizadas e melhoria do sistema radicular, influenciando diretamente o desempenho de mudas em campo (Alfenas et al., 2004), diminuição do período de enraizamento e aclimação (Higashi et al., 2002).

Estes aspectos são apontados por Xavier e Santos (2002) como importantes para ampliação da base silvicultural de espécies nativas com fins econômicos, para recuperação de áreas e de ecossistemas degradados (Carpanezzi, 2005), possibilitando também o resgate de genótipos adultos de interesse.

A multiplicação é determinada pelo balanço adequado dos reguladores de crescimento, os quais são substâncias sintéticas que aplicadas exogenamente possuem ações similares aos grupos de hormônios vegetais conhecidos (auxinas, giberelinas, citocininas, retardadores, inibidores e etileno) atuando no processo de desenvolvimento vegetal (sendo os mais utilizados as citocininas e as auxinas) (Schwalbert et al., 2014; Xavier et al., 2013; Davies, 2004).

É conhecida a atuação predominante de dois hormônios vegetais, a auxina e a citocinina (Taiz e

Zeiger, 2009). Auxina é o principal hormônio promotor da iniciação e crescimento das raízes adventícias, o que já foi demonstrado por inúmeros trabalhos (Hartmann et al., 2011; Pijut et al., 2011). Em contrapartida, a citocinina estimula a atividade de divisão celular e o brotamento quando aplicada diretamente às gemas axilares de diversas espécies (Taiz e Zeiger, 2009).

Uma das últimas inovações na micropropagação de espécies lenhosas tem sido a introdução do thidiazuron (TDZ) (N-fenil-N'-1,2,3-tiadiazol-5-ylureia) na multiplicação de gemas axilares durante a micropropagação (Mok et al., 1982). Outro fitorregulador com potencial de citocinina é a calciocianamida ou cianamida hidrogenada, que promove a brotação de gemas mais precoces de maneira mais uniforme, aumentando a porcentagem total de brotações de gemas (Perussi, 2009). A calciocianamida serve para romper a dormência das gemas de várias espécies de plantas decíduas como macieira, amendoeira, figueira, parreira, pessegueiro, caqui e ameixeira (Camili, 2007).

Por último tem-se as tioureia que são substâncias não-específicas como nitratos, nitritos e derivados de ureia, consideradas promotoras da germinação, com efeito semelhante às citocininas (Delatorre et al., 1997). No entanto, quando aplicada em altas concentrações, a tioureia serve também como inibidor da germinação e do crescimento (Colli e Perez, 2002)

Levando-se em conta o uso de fitorreguladores e sua atuação na adsorção de nutrientes, a otimização de um meio de cultura para a micropropagação, com ênfase na nutrição mineral, representa um grande desafio, em decorrência dos diferentes requerimentos nutricionais entre as espécies e da grande interação que existe entre os nutrientes minerais (Poothong e Reed, 2014).

A análise nutricional dos explantes é uma ferramenta muito útil para avaliar o estado das plantas (Bergmann, 1992; Mourão Filho, 2004). Para eucaliptos, a determinação do estado nutricional está baseada em análises químicas de folhas totalmente desenvolvidas (Bellote e Silva, 2000).

O objetivo deste trabalho foi avaliar os teores de ferro e zinco em explantes de *Corymbia citriodora* var. 20 *in vitro*, por meio de quatro fitorreguladores de crescimento.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas brotações de gemas caulinares micropropagadas *in vitro* da variedade 20 de *Corymbia citriodora*. Os explantes foram introduzidos em meio de cultura Murashige e Skoog (1962) (MS), na forma sólida com adição dos fitorreguladores nas dosagens pré-estabelecidas. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, observado aos 42 dias de avaliação e cinco tratamentos com três repetições cada: T0 (sem adição de fitorreguladores no meio de cultura); T1 (adição de BAP no meio de cultura); T2 (adição de TDZ no meio de cultura); T3 (adição de tioureia no meio de cultura) e T4 (adição de calciocianamida no meio de cultura), com quatro dosagens (1,1; 2,2; 4,4 e 8,8  $\mu\text{mol}$ ) de fitorregulador por tratamento.

Para cada tratamento foram preparados 30 frascos com capacidade de 100 ml, vedados com tampa de polipropileno gerando um total de 150 frascos e adicionados em cada frasco 40 ml de meio de cultura sólido (ágar). Ajustou-se o pH dos meios de cultura para  $5,8 \pm 0,1$ , antes da autoclavagem. A vidraria contendo os tratamentos foi esterilizada em autoclave a  $121^\circ\text{C}$  sob pressão de  $1,05 \text{ kg/cm}^2$ , durante 20 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de  $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 12 horas, com  $50 \mu\text{mol m}^2 \text{ s}^{-1}$  de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) equivalente a 2000 lux, fornecida por luz branca fria localizada 30 cm acima do nível de cada prateleira, gerada por duas lâmpadas de 110 W de potência e 250 cm de comprimento aproximadamente, durante sete semanas (42 dias).

Foram feitas avaliações aos 42 dias após a instalação do experimento, para análise dos teores de Fe e Zn e Taxa de Crescimento Relativo (TCR). A TCR para explantes de *C. citriodora var. 20 in vitro* foi obtida pelo peso avaliado desde o primeiro dia até o quadragésimo segundo dia. As amostras foram pesadas para obtenção da massa fresca e após, secas em estufa a  $60^\circ\text{C}$ , até peso constante, para obtenção da massa seca em gramas. O material seco foi utilizado para as análises dos teores de Fe e Zn, bem como a TCR. A TCR foi calculada utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{Taxa de crescimento relativo} = \frac{\ln \text{PMS}_2 - \ln \text{PMS}_1}{T_2 - T_1} \quad (1)$$

Onde:  $\ln$  = logaritmo neperiano

$\text{PMS}_2$  = produção de matéria seca no período final

$\text{PMS}_1$  = produção de matéria seca no período inicial

$T_2$  = tempo final

$T_1$  = tempo inicial

Posteriormente, o material foi moído em moinho tipo Willey (modelo MA680/1) para obtenção de partículas homogêneas, acondicionado em frascos de vidro, devidamente tampados, identificados e armazenados em freezer a  $-20^\circ\text{C}$ . Com o material moído, determinaram-se os teores de Fe e Zn dos explantes conforme metodologia descrita por Malavolta et al. (1997).

Os dados mensurados no experimento foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk ( $P < 0,05$ ) a fim de verificar a normalidade e a homogeneidade das variâncias. Em seguida, foi realizada a análise de variância para a TCR (ANOVA,  $P < 0,05$ ). Para a comparação de médias, utilizou-se o teste de Tukey. O programa computacional R 3.3.1 (R Development Core Team, 2016) foi utilizado para a análise estatística dos dados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de ferro encontrados em explantes de *C. citriodora var. 20 in vitro* aos 42 dias após introdução *in vitro* do experimento são apresentados na Figura 1.

Os teores de Fe diminuiram à medida que as dosagens dos fitorreguladores aumentaram principalmente para os tratamentos com TDZ e calciocianamida. Já ao se aumentar a dosagem de 4,4 para 8,8  $\mu\text{mol. L}^{-1}$  de meio, houve um aumento significativo nos teores de Fe para os meios com introdução de BAP e tioureia. Estudos feitos por Poothong e Reed (2014) mostraram que quanto menor os teores de Fe nos explantes, maior o número de brotações por explante introduzido. Tais resultados são corroborados por De Oliveira et al. (2012) em estudos com algumas espécies de eucalipto.

Segundo Schwalbert et al. (2014), o suprimento inadequado de um elemento essencial (excesso ou deficiência) pode resultar em prejuízos para o desenvolvimento vegetal. O excesso de nutrientes, por exemplo, pode provocar danos por salinidade, ou seja, ocorre um desequilíbrio osmótico que afeta negativamente a absorção de água pelas raízes. A concentração do ágar no meio aumentou os níveis de Fe e de outros elementos, como o P, Zn e Al, e reduziu os níveis de Ca, Mg e Mn no explante.

O Fe age como catalisador na formação da clorofila e como carregador de oxigênio. É essencial a síntese de proteínas e na formação de alguns sistemas respiratórios enzimáticos (Unifertil, 2012).

Outro micronutriente tão importante quanto o Fe é o Zn, cujos teores em explantes de *C. citriodora var. 20 in vitro* são verificados na Figura 2.

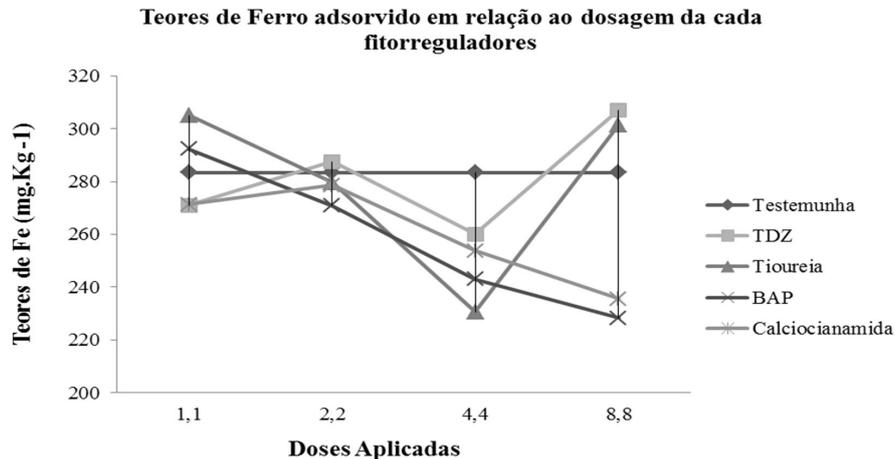
Os maiores teores de Zn foram verificados nos explantes com adição de 8,8  $\mu\text{mol. L}^{-1}$  de meio com o uso de TDZ e tiourea. Segundo Dalton et al. (1983), mesmo em quantidades suficientes, a absorção de alguns nutrientes como Fe e Zn pode ser impedida por fatores, como sua precipitação.

De acordo com a análise de variância e o teste de médias para taxa de crescimento relativo (TCR),

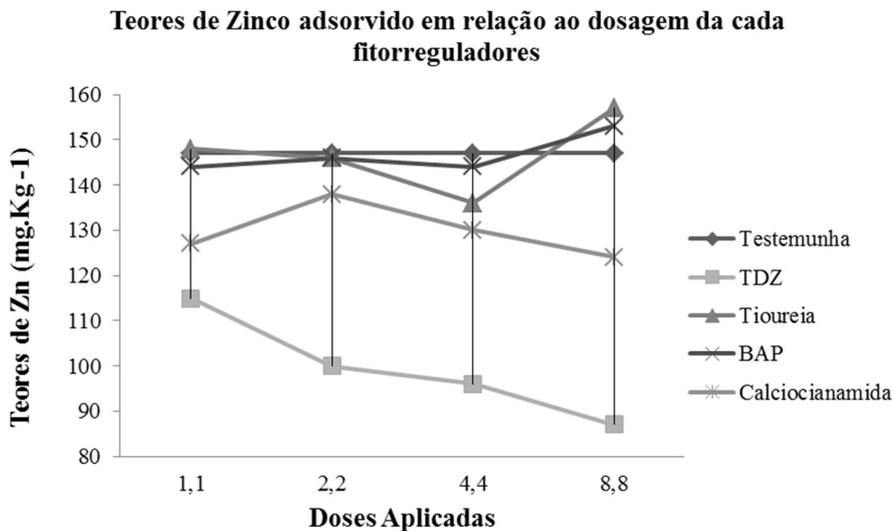
verificou-se efeito significativo para todos os fitorreguladores nas dosagens e épocas de avaliação, com exceção da testemunha onde os pesos foram os mesmos adotados para todos os tratamentos (Tabela 1).

Os valores mantiveram-se entre 2,28 e 2,93 g durante o período de 42 dias de avaliação. Resultados semelhantes foram encontrados por Schiavon et al. (2018) em experimentos com girassol. Os maiores valores foram observados nos tratamentos com adição de BAP como fitorregulador de crescimento, nas dosagens de 2,2 e 4,4  $\mu\text{mol. L}^{-1}$  de meio.

A calciocianamida, segundo Pires et al. (1995), pode ser letal às plantas em altas concentrações ou quando aplicada em estágio fisiológico inadequado; além disso, tanto a espécie e o cultivar (genótipo), como



**Figura 1.** Teores de ferro em explantes de *C. citriodora var. 20 in vitro* aos 42 dias após implantação do experimento. As dosagens referem-se respectivamente a 1,1; 2,2; 4,4 e 8,8  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .



**Figura 2.** Teores de Zn em explantes de *C. citriodora var. 20 in vitro* aos 42 dias após implantação do experimento. As dosagens referem-se respectivamente a 1,1; 2,2; 4,4 e 8,8  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .

**Tabela 1.** Taxa de crescimento relativo semanal para explantes de *C. citriodora* var. 20 *in vitro* submetidos a diferentes fitorreguladores e dosagens, Piracicaba, outubro de 2018.

Tratamentos	Dosagens	Taxa de crescimento relativo
Testemunha	0	2,48c
BAP	1,1	2,65bB
	2,2	2,92aA
	4,4	2,93aA
	8,8	2,83abAB
TDZ	1,1	2,76aAB
	2,2	2,57bBC
	4,4	2,68 abB
	8,8	2,59bBC
Tioureia	1,1	2,68aB
	2,2	2,64abB
	4,4	2,54bBC
	8,8	2,61abB
Calcicionamida	1,1	2,4aCC
	2,2	2,33abC
	4,4	2,45aC
	8,8	2,28bC

Nas colunas, médias seguidas por mesma letra minúscula e médias seguidas por mesma letra maiúscula, não diferiram significativamente pelo teste de Tukey dentro dos tratamentos e entre tratamentos, respectivamente, ao nível de 5% de probabilidade de erro. As dosagens referem-se respectivamente a 1.1, 2.2, 4.4 e 8.8  $\mu\text{mol. L}^{-1}$ .

o estado nutricional, modo de aplicação e as condições climáticas podem influenciar no sucesso do uso da cianamida hidrogenada.

Os valores da TCR obtidos em todos os tratamentos para os quatro fitorreguladores avaliados apresentaram-se dentro da normalidade segundo a bibliografia. Pode-se constatar que as dosagens utilizadas foram adequadas para o desenvolvimento.

A análise de crescimento baseia-se, fundamentalmente, no fato de que cerca de 90%, em média, da matéria seca acumulada pelas plantas ao longo do seu desenvolvimento resulta da atividade fotossintética; permitindo avaliar o crescimento final da planta como um todo e a contribuição dos diferentes órgãos no desenvolvimento total (CAMPOS et al., 2008). Sendo assim, quanto maior o teor de matéria seca, maior será o potencial fotossintético e consequente arranque no desenvolvimento dos explantes.

## CONCLUSÕES

Os maiores teores de ferro e zinco em explantes de *Corymbia citriodora* var. 20 são observados com aplicação de BAP (6-benzilaminopurina) e tioureia, nas doses de 8,8  $\mu\text{mol. L}^{-1}$  de meio de cultura.

## REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A.C., et al., 2004. *Clonagem e doenças do eucalipto*. Viçosa: Editora UFV. 442 p.
- BELLOTE, A.F.J. & SILVA, H.D., 2000. Técnicas de amostragem e avaliações nutricionais em plantios de *Eucalyptus* spp. In: J.L.M. GONÇALVES & V. BENEDETTI. *Nutrição e fertilização florestal*. Piracicaba: IPEF, pp. 105-133.
- BERGMANN, W., 1992. *Nutritional disorders of plants: developments, visual and analytical diagnosis*. New York: Gustav Fischer Verlag Jena.
- BRONDANI, G. E., ONDAS, H.W.W., BACCARIN, F.J.B., GONÇALVES, A.N. & ALMEIDA, M., 2012. Micropropagation of *Eucalyptus benthamii* to form a clonal microgarden. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, vol. 48, no. 5, pp. 478-487. <http://dx.doi.org/10.1007/s11627-012-9449-9>.
- CAMILI, E.C., 2007. *Ação de biorreguladores na brotação, produção e algumas características físico-químicas de uva do cultivar superior Seedless* [online]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". 220 p. Tese de Doutorado em Agronomia. Disponível em: [http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select\\_action=&co\\_obra=82305](http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=82305)
- CAMPOS, M.F., ONO, E.O., BOARO, C.S.F. & RODRIGUES, J.D., 2008. Análise de crescimento em plantas de soja tratadas com substâncias reguladoras. *Biotemas*, vol. 21, no. 3, pp. 53-63. Disponível em: <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2008v21n3p53>.
- CARPANEZZI, A.A., 2005. Fundamentos para a reabilitação de ecossistemas florestais. In: A.P.M. GALVÃO & V. PORFÍRIO-DASILVA, orgs. *Restauração florestal: Fundamentos e Estudos de Caso*. Colombo: Embrapa Florestas, pp. 27-45.
- COLLI, A.M.T. & PEREZ, S.C.J.G.A., 2002. Efeito de GA, tioureia e cumarinana na germinação dos esporos de *Thelypteris longifolia* (Desv.) R. Tryon [online]. *Bol. Mus. Biol.* Disponível em: [http://www.melloleitao.locaweb.com.br/boletim/arquivos/13/Boletim\\_13\\_Artigo04.pdf](http://www.melloleitao.locaweb.com.br/boletim/arquivos/13/Boletim_13_Artigo04.pdf)
- DALTON, C.C., IQBAL, K. & TURNER, D.A., 1983. Iron phosphate precipitation in Murashige and Skoog media. *Physiologia Plantarum*, vol. 57, pp. 472-476. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1983.tb02771.x>.

- DAVIES, P.J., 2004. *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action*. 3rd ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 750 p. Disponível em: Acervo da Biblioteca do IPEF.
- DE OLIVEIRA, L.S., XAVIER, A., DIAS, P.C., CORREIA, A.C.G., BORGES, S.R., TAKAHASHI, E.K. & DE PAIVA, H.N., 2012. Enraizamento de miniestacas e microestacas de clones de *Eucalyptus urophylla* x *E. globulus* e de *Eucalyptus grandis* x *E. globulus*. *Scientia Forestalis* [online], vol. 40, no. 96, pp. 507-516. Disponível em: <https://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr96/cap09.pdf>
- DELATORRE, C.A., BARROS, R.S., & VIEIRA, H.D., 1997. Germinação de sementes de *Stylosanthes humilis* em resposta a tiourea. *Rev Bras de Fisiol Veg*, vol. 9, no. 1, pp. 49-53. Disponível em: Acervo da Biblioteca do IPEF.
- HARTMANN, H.T., KESTER, D.E., DAVIES JUNIOR, F.T. & GENEVE, R.L., 2011. *Plant propagation: principles and practices*. 8th ed. São Paulo: Prentice-Hall, 2011. 915 p. Disponível na Biblioteca do IPEF.
- HIGASHI, E.N., SILVEIRA, R.L.V.A., & GONÇALVES, A.N., 2002. *Nutrição e adubação em minijardim clonal hidropônico de Eucalyptus*. São Paulo: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. 21 p. Circular Técnica IPEF, no. 194. Disponível em: <https://www.ipef.br/publicacoes/ctecnica/nr194.pdf>
- MALAVOLTA, E., VITTI, G.C. & OLIVEIRA, S.A., 1997. *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. 2.ed. rev. atual. Piracicaba: POTAFÓS, pp. 76-77. Disponível em: Acervo pessoal.
- MOK, M.C., et al., 1982. Cytokinin activity of N-phenyl-N'-1,2,3-thiadiazol-5-ylurea (Thidiazuron). *Phytochemistry*, vol. 21, no. 7, pp. 1509-1511. [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(82\)85007-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(82)85007-3).
- MOURÃO FILHO, F.A.A., 2004. DRIS: concepts and applications on nutritional diagnosis in fruit crops. *Scientia Agrícola*, vol. 61, no. 5, pp. 550-560. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162004000500015>.
- MURASHIGE, T., & SKOOG, F.A., 1962. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, vol. 15, pp. 473-497. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- OLIVEIRA, L.S., XAVIER, A., LOPES, A.P., TAKAHASHI, E.K. & OTONI, W.C., 2016. Multiplicação e Alongamento *in vitro* de Clones Híbridos de *Eucalyptus globulus*. *Ciência Florestal, Santa Maria*, vol. 26, no. 1, pp. 235-247. <http://dx.doi.org/10.5902/198050982524>.
- PERUSSI, G.P.G., 2009. *Quebra de dormência de macieira com uso de alho em Guarapuava – PR* [online]. Paraná: Universidade Estadual do Centro-Oeste. 60 p. Dissertação de Mestrado em Agronomia. Disponível em: [http://unicentroagronomia.com/destino\\_arquivo/dissertacao\\_gisele\\_pauline\\_garbelini\\_perussi.pdf](http://unicentroagronomia.com/destino_arquivo/dissertacao_gisele_pauline_garbelini_perussi.pdf)
- PIJUT, P.M., WOESTE, K.E. & MICHLER, C.H., 2011. Promotion of adventitious root formation of difficult-to-root hardwood tree species. *Horticultural Reviews*, vol. 38, pp. 213-251. <http://dx.doi.org/10.1002/9780470872376.ch6>.
- PIRES, E.J.P., TERRA, M.M., POMMER, C.V., PASSOS, I.R.S., NAGAI, V. & AMBROSANO, G.M.B., 1995. Adjustment of ideal H<sub>2</sub>CN<sub>2</sub> concentration for breaking dormancy of grapevine in less warm region. *Acta Horticulturae, Leiden*, vol. 395, pp. 169-176. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.1995.395.18>.
- POOTHONG, S. & REED, B., 2014. Modeling the effects of mineral nutrition for improving growth and development of micropropagated red raspberries. *Scientia Horticulturae*, vol. 165, no. 22, pp. 132-141. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2013.10.040>.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2016. *Na introduction to R. Notes on R: a programming environment for data analysis and graphics*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Version 2.15.1. ISBN 3-900051-12-7.
- SCHIAVON, N.C., LIMA, R.C., AGUIAR, V.F., SANTOS, V.K.S., PEREIRA, G.A.M., SILVA, E.B., & FERREIRA, E.A., 2018. Marcha de absorção de nutrientes em plantas de girassol (*Helianthus annuus*). *Cultura Agrônômica*, vol. 27, no. 2, pp. 236-250. Disponível em: <http://ojs.unesp.br/index.php/rculturaagronomica/article/viewFile/2438/1893>
- SCHWALBERT, R., MALDANER, J., AITA, M.F., GLÁUCIA AZEVEDO DO AMARAL, G.A. & TAROUÇO, A.K., 2014. Concentrações de sais do meio MS no cultivo *in vitro* de *Desmodium incanum* [online]. *Enciclopédia Biosfera*, vol. 10, no. 18. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014a/AGRARIAS/concentracoes.pdf>

TAIZ, L. & ZEIGER, E., 2009 [acesso em 20 fevereiro 2018]. *Fisiologia vegetal* [online]. 4. ed. E.R. SANTARÉM, L.V. ASTARITA, L.R. DILLENBURG, L.M.G. ROSA & P.L. OLIVEIRA, trans. Porto Alegre: The Art of Medication. 848 p. Disponível em: Acervo pessoal.

UNIFERTIL, 2012. *Nutrientes – Do que as plantas precisam?* [online]. Disponível em: <http://unifertil.com.br/wp-content/uploads/2018/04/Artigo-n%C2%BA-2-Nutrientes-O-que-as-plantas-precisam.-min.pdf>

XAVIER, A., & SANTOS, G.A., 2002. Clonagem de espécies florestais nativas. In: M.G.B. ROCHA. *Melhoramento de espécies arbóreas nativas*. Minas Gerais: Instituto Estadual de Florestas, 171 p. Disponível na Biblioteca do IPEF.

XAVIER, A., WENDLING, I., & SILVA, R.L., 2013. *Silvicultura clonal: princípios e técnicas*. 2. ed. Viçosa: Editora UFV. 279 p. Disponível na Biblioteca do IPEF.