

## **POLIVINILPIRROLIDONA NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE OLIVEIRA 'GRAPPOLO 541'**

Bruna Andressa dos Santos Oliveira<sup>1</sup>  
Roseane Madaina Moreira<sup>2</sup>  
Aline Ramm<sup>3</sup>  
Jacqueline Barcelos da Silva<sup>4</sup>  
Patrícia Maciejewski<sup>5</sup>  
Márcia Wulff Schuch<sup>6</sup>

**RESUMO:** O cultivo de oliveira (*Olea europaea* L.) vêm crescendo no Brasil, sendo necessário o aprimoramento para obtenção de mudas de qualidade. A micropropagação é uma alternativa para a produção de mudas com qualidade fitossanitária e vegetativa, porém alguns fatores como oxidação, contaminação fúngica e bacteriana dos explantes limitam sua aplicação. Objetivou-se verificar a concentração de PVP (Polivinilpirrolidona) visando a redução da oxidação de explantes no estabelecimento *in vitro* de oliveira 'Grappolo 541'. O experimento foi realizado no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, totalizando quatro tratamentos constituídos de diferentes concentrações de PVP (0 g.L<sup>-1</sup>; 1 g.L<sup>-1</sup>; 2 g.L<sup>-1</sup> e 3 g.L<sup>-1</sup>), com quatro repetições e 20 tubos por repetição com um explante cada. Foram avaliados porcentagem de contaminação bacteriana, porcentagem de contaminação fúngica, porcentagem de explantes oxidados, porcentagem de sobrevivência e porcentagem de estabelecimento. Para a porcentagem de oxidação, não houve diferença estatística. Para contaminação bacteriana, ocorreu diferença estatística entre os tratamentos, a ausência de PVP apresentou resultados satisfatórios. Para porcentagem de contaminação fúngica, ocorreu diferença estatística entre os tratamentos, onde as

- 
- 1 Mestranda em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas.
  - 2 Doutora em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas.
  - 3 Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas.
  - 4 Doutoranda em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas.
  - 5 Doutoranda em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas.
  - 6 Professora Titular Doutora em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas.

concentrações de 1 g.L<sup>-1</sup>, 2 g.L<sup>-1</sup> e 3 g.L<sup>-1</sup> obtiveram resultados satisfatórios. Nos dias de cultivo, a contaminação bacteriana e fúngica apresentaram as maiores porcentagens nos primeiros 7 dias. Não houve diferença quanto a sobrevivência e estabelecimento. A utilização do PVP em oliveira 'Grappolo 541' não apresentou resultados satisfatórios para a redução da oxidação.

Palavras-chave: *Olea europaea* (L), micropropagação, oxidação.

## POLYVINYLPYRROLIDONE IN THE ESTABLISHMENT IN VITRO OF OLIVE 'GRAPPOLO 541'

**ABSTRACT:** *The cultivation of olive (*Olea europaea* L.) have been growing in Brazil, being necessary the improvement to obtain quality seedlings. Micropropagation is an alternative for the production of seedlings with phytosanitary and vegetative quality, but some factors such as oxidation, fungal and bacterial contamination of the explants limit its application. The objective of this study was to verify the concentration of PVP (Polyvinylpyrrolidone) in order to reduce the oxidation of explants in the in vitro establishment of 'Grappolo 541' olive tree. The experiment was carried out at the Laboratory of Propagation of Fruit Plants of the Federal University of Pelotas (UFPeL). The experimental design was completely randomized, with four treatments consisting of different concentrations of PVP (0 g.L<sup>-1</sup>; 1 g.L<sup>-1</sup>; 2 g.L<sup>-1</sup> and 3 g.L<sup>-1</sup>), with four replicates and 20 tubes per replicate with one explant each. Percentage of bacterial contamination, percentage of fungal contamination, percentage of oxidized explants, percentage of survival and percentage of establishment were evaluated. For the percentage of oxidation, there was no statistical difference. For bacterial contamination, there was a statistical difference between the treatments, the absence of PVP presented satisfactory results. For the percentage of fungal contamination, there was a statistical difference between the treatments, where the concentrations of 1 g.L<sup>-1</sup>, 2 g.L<sup>-1</sup> and 3 g.L<sup>-1</sup> obtained satisfactory results. On days of cultivation, bacterial and fungal contamination presented the highest percentages in the first 7 days. There was no difference in survival and establishment. The use of PVP in olive 'Grappolo 541' did not present satisfactory results for oxidation reduction.*

**Keywords:** *Olea europaea* (L), micropropagation, oxidation.

## INTRODUÇÃO

A oliveira (*Olea europaea* L.) pertence à família Oleaceae que inclui até 30 gêneros e 600 espécies distribuídas por regiões tropicais e temperadas (OLIVEIRA; ABRAHÃO, 2006; CORRÊA et al., 2002). Sua base econômica localiza-se na região mediterrânea, e em países da comunidade Européia, onde se encontram os maiores plantios comerciais do mundo. A Espanha é o principal país produtor de oliva no mundo, com uma produção em 2010 de 8.014.000 toneladas de oliva em 2.092.800 hectares; seguida da Itália, Grécia entre outros (FAO, 2011).

No Brasil é crescente o consumo de azeite de oliva e azeitona, provavelmente devido à divulgação dos seus benefícios à saúde e preços mais acessíveis ao consumidor (BRASIL, 2012). O cultivo dessa frutífera representa redução de gastos, visto que o país é totalmente dependente da importação de azeitonas e azeites. No entanto, o Brasil apresenta carência de tecnologia aplicada ao cultivo da oliveira, necessitando de estudos sobre aspectos da cultura, sendo que um fator importante é a obtenção de mudas de qualidade (OLIVEIRA et al., 2003; NETO et al., 2010)

Em nível comercial, a oliveira é propagada vegetativamente por estaquia e enxertia, no entanto, como a demanda por mudas está aumentando, a micropropagação pode proporcionar um fornecimento adequado de plantas em um curto espaço de tempo (MOREIRA, 2014), possibilitando a reprodução de plantas geneticamente homogêneas, e para a maioria das cultivares de oliveiras vêm apresentando resultados promissores (RUGINI et al., 2001). Conforme Biasi et al. (2003), o cultivo *in vitro* pode ser considerado uma alternativa que permite a manutenção do germoplasma de diversas culturas.

Algumas limitações são encontradas no cultivo *in vitro* das espécies lenhosas, como as altas concentrações de compostos fenólicos, que acabam oxidando e ocasionando a morte do material vegetal (KERBAUY, 2004). Compostos fenólicos são produzidos pelas plantas apresentando várias funções nos vegetais, alguns agem como compostos de defesa contra herbívoros e patógenos, outros tem função no suporte mecânico como atrativos de polinizadores (TAIZ & ZEIGER, 2013).

Para a diminuição da oxidação, Grattapaglia e Machado (1998) recomendam a adição de antioxidantes ao meio de cultivo ou o pré-tratamento dos explantes em solução contendo antioxidantes. O PVP (polivinilpirrolidona) é um antioxidante que tem sido bastante empregado, sendo que os fenóis são adsorvidos pelo PVP por meio de ligações de hidrogênio, o que previne a oxidação e polimerização, além de adsorver os produtos da oxidação fenólica, ou seja, as quinonas (PASQUAL et al. 1997).

Alguns trabalhos sobre o uso de PVP para controle da oxidação foram realizados, como por Augusto e Biasi et al. (2002), em amoreira-preta (*Rubus* sp.) e Oliveira et al. (2011), em bananeira (*Musa* spp.). Entretanto, são escassas as informações a respeito do uso dessa substância para controle de oxidação em oliveira, sendo este um dos problemas enfrentado em espécies lenhosas, o que ressalta a necessidade de estudos para facilitar seu estabelecimento *in vitro* e, conseqüentemente, o avanço na área da micropropagação. Assim, objetivou-se

verificar a concentração de PVP visando à redução da oxidação de explantes no estabelecimento *in vitro* de oliveira 'Grappolo 541'.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas da Universidade Federal de Pelotas-RS (UFPel), no período de junho a julho de 2017.

Foram utilizadas plantas matrizes de oliveira 'Grappolo 541', com quatro anos de idade, pertencentes ao matrizeiro do laboratório, mantidas em vasos de 24,5 litros em sistema semi-hidropônico, irrigadas com solução nutritiva, formulada por Schuch e Peil (2012), de acordo com as necessidades da cultura.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, totalizando quatro tratamentos constituídos de diferentes concentrações de PVP (Polivinilpirrolidona), sendo elas 0 g.L<sup>-1</sup>; 1 g.L<sup>-1</sup>; 2 g.L<sup>-1</sup> e 3 g.L<sup>-1</sup>, com quatro repetições cada. Constituída a repetição de 20 tubos com um explante cada. Para a realização dos tratamentos, as brotações novas foram coletadas, com aproximadamente 2 cm, contendo duas gemas, as quais tiveram suas folhas removidas no momento da colheita.

Para diminuir a contaminação *in vitro*, anteriormente a coleta as plantas matrizes foram pulverizadas a cada dois dias, com Kasumin® (bactericida) e Cercobin® (fungicida), nas doses de 3 ml.L<sup>-1</sup> e 0,7 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Primeiramente, os explantes foram desinfestados, utilizando álcool a 70%, sob agitação durante 1 minuto e, posteriormente, imersos em hipoclorito de sódio, na concentração de 2,5% de cloro ativo, adicionando-se duas gotas de Tween 20, durante 15 minutos em contato com os explantes, sob agitação. Na sequência, o material desinfestado foi lavado três vezes com água destilada autoclavada e esterilizada em câmara de fluxo laminar, para posterior isolamento dos explantes.

Foi utilizado o meio de cultivo (WPM), adicionado de 2 mg.L<sup>-1</sup> de 6-Benzilaminopurina (BAP) (DONINI, 2009), acrescidos de 100 mg.L<sup>-1</sup> de mioinositol, 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, sendo o pH ajustado para 6,0 antes da inclusão do ágar na concentração de 6g.L<sup>-1</sup> e, posteriormente, autoclavado a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. Utilizou-se tubos de ensaio (150 x 20 mm) com 10 mL de meio de cultura.

Após a inoculação, os explantes foram mantidos no escuro, a 25 ± 2°C, por um período de sete dias, para diminuir a oxidação fenólica. Em seguida, foram transferidos para sala de crescimento com 16 horas de fotoperíodo com radiação de 27µmolesm<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> e temperatura de 25 ± 2°C.

Foram realizadas avaliações aos 7, 14, 21 e 28 dias de cultivo, quanto à porcentagem de contaminação bacteriana, porcentagem de contaminação fúngica e porcentagem de explantes oxidados. Os frascos que apresentaram contaminação e/ou oxidação foram eliminados após registro. Aos 45 dias de cultivo o material foi avaliado quanto à porcentagem de sobrevivência, indicada pela coloração verde do segmento nodal, e quanto à porcentagem de estabelecimento, que foi determinado pelo desenvolvimento de primórdios foliares e presença de brotações.

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados em porcentagem foram transformados em arco seno da  $\sqrt{\frac{x}{100}}$  onde x é o percentual obtido.

## RESULTADOS

Em relação porcentagem de oxidação (Tabela 1 e Figura 1), verifica-se que não ocorreram diferenças estatísticas entre as concentrações testadas.

Para a variável contaminação bacteriana (Tabela 1 e Figura 1), ocorreu diferença estatística entre os tratamentos, a ausência de PVP apresentou menor porcentagem dentre as demais.

Quanto a variável contaminação fúngica (Tabela 1 e Figura 1), a ausência do PVP apresentou as maiores porcentagens, não diferindo estatisticamente das concentrações 1 e 2 mg.L<sup>-1</sup>. Verificou-se que a concentração de 3 mg.L<sup>-1</sup>, apresentou a menor porcentagem de contaminação, obtendo resultados satisfatórios, porém não diferindo estatisticamente das concentrações 1 e 2 mg.L<sup>-1</sup>.

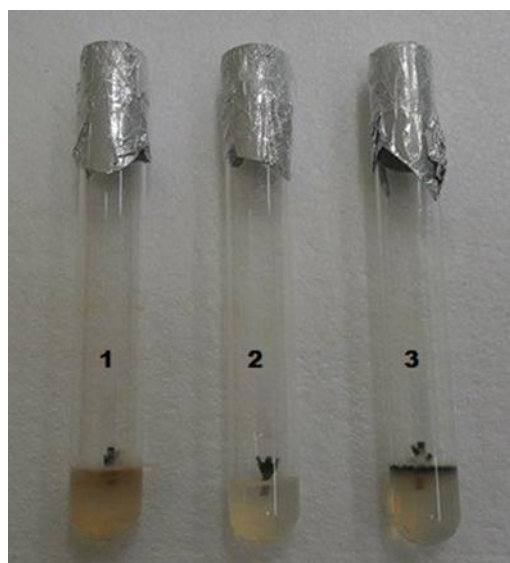


Figura 1. Tubos com (1) contaminação bacteriana, (2) oxidação e (3) contaminação fúngica, Pelotas, RS-Brasil.

Tabela 1. Porcentagem de oxidação, porcentagem de contaminação bacteriana e porcentagem de contaminação fúngica de explantes de oliveira, em diferentes concentrações de PVP. Pelotas-RS, 2018.

Concentrações de PVP (mg.L <sup>-1</sup> )	Variáveis analisadas		
	Oxidação (%)	Bactérias (%)	Fungos (%)
0	0,25 <sup>NS</sup>	6 b <sup>1/</sup>	11,75 a
1	0	12,25 a	7,25 ba
2	0	11,75 a	7,50 ba
3	0	11,50 a	6,50 b
CV (%)	140	22	28,32

<sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey ( $p \leq 0,05$ ). <sup>NS</sup>: não significativo pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ) da análise de variância. CV (%): coeficiente de variação.

Em relação ao fator dias de cultivo (Tabela 2), não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Para a contaminação bacteriana, verificou-se a maior porcentagem nos primeiros 7 dias de cultivo, não diferindo estatisticamente dos 14 e 21 dias, porém observou-se menores médias ao decorrer dos dias, obtendo a menor porcentagem a partir dos 28 dias.

Quanto a porcentagem de contaminação fúngica, houve diferença significativa entre os tratamentos, onde a maior porcentagem foi nos primeiros 7 dias de cultivo.

Tabela 2. Porcentagem de oxidação, porcentagem de contaminação bacteriana e porcentagem de contaminação fúngica de explantes de oliveira, em diferentes dias de cultivo. Pelotas-RS, 2018.

Dias	Variáveis analisadas		
	Oxidação (%)	Bactérias (%)	Fungos (%)
7	0 <sup>NS</sup>	5,25 a <sup>1/</sup>	5,31 a
14	0,062	2,81 ba	1,87 b
21	0	1,68 ba	0,375 b
28	0	0 b	1 b
CV(%)	107,25	56,76	66,39

<sup>1/</sup>Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste tukey ( $p \leq 0,05$ ). <sup>NS</sup>: não significativo pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ) da análise de variância. CV (%): coeficiente de variação.

Para a variáveis sobrevivência e estabelecimento (Tabela 3), não houve diferença estatísticas entre os tratamentos.

Tabela 3. Porcentagem de sobrevivência e porcentagem de estabelecimento em explantes de oliveira, em diferentes concentrações de PVP. Pelotas-RS, 2018.

Concentrações de PVP (mg.L <sup>-1</sup> )	Variáveis analisadas	
	Sobrevivência (%)	Estabelecimento (%)
0	2 <sup>NS</sup>	2 <sup>NS</sup>
1	1	0,75
2	1,25	1
3	2,5	1,50
CV (%)	125	119,96

<sup>NS</sup>: não significativo pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ) da análise de variância. CV (%): coeficiente de variação.

## DISCUSSÃO

Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira et al. (2011) para a variável porcentagem de oxidação, onde utilizaram PVP na concentração de 4 g L<sup>-1</sup> em bananeira e obtiveram redução da oxidação dos explantes. Figueiredo et al. (2001) também obtiveram resultados satisfatórios na micropropagação de biribá (*Rollinia mucosa* Jacq Baill), utilizando 0,5 g L<sup>-1</sup> de PVP. Conforme Monaco et al. (1977), a

oxidação fenólica pode dificultar o estabelecimento inicial do cultivo *in vitro*, pois algumas enzimas oxidam os fenóis formando quinonas, as quais são responsáveis pela coloração marrom das culturas, além de causarem a morte dos explantes.

Em relação à contaminação bacteriana, estudos realizados por Lima e Moraes (2006) na cultura da bananeira corroboram com este trabalho, onde as taxas de contaminação mais elevadas são de origem bacteriana. Conforme Braga et al. (2001), a fase mais suscetível desse tipo de contaminação é no estabelecimento *in vitro*, com tendência de redução à medida que vão sendo realizados os subcultivos. Em um ambiente mais competitivo, os níveis de contaminações atingidos podem inviabilizar a produção comercial de mudas, sendo este o principal fator que onera o rendimento desta cultura.

Silva et al. (2007) atribui resultados de contaminação fúngica à hipótese da condição do ambiente em que se encontravam as plantas matrizes, o ambiente fechado e escuro provavelmente tenha induzido o aumento de umidade relativa do ar, vindo a favorecer o desenvolvimento de fungos.

De acordo com Erig & Schuch (2003), as plantas lenhosas, em que é incluída a maioria das plantas frutíferas, apresentam dificuldades para o estabelecimento *in vitro*, principalmente devido à contaminação e oxidação.

Em relação à oxidação em diferentes dias de cultivo, resultados encontrados por Donini et al. (2008) corroboram com este trabalho, onde em estabelecimento *in vitro* de oliveira os autores obtiveram baixa porcentagem de oxidação. Diferindo dos resultados encontrados por Dias et al. (2013), que trabalhando com estabelecimento *in vitro* romãzeira (*Punica granatum* L.) observou-se aos 5 dias de cultivo uma média de 23,05% e a partir deste período houve um pequeno acréscimo não significativo ao longo das demais avaliações, correspondendo aos 30 dias a 26,17%.

Para a contaminação bacteriana em diferentes dias de cultivo, os resultados são semelhantes aos encontrados pelos mesmos autores, que obtiveram baixa porcentagem de contaminação bacteriana aos 30 dias de cultivo *in vitro*. Em relação à contaminação fúngica, os autores encontraram resultados que diferem deste trabalho, onde verificou-se um acréscimo ao longo do cultivo de 0% para 40,63% e 51,56% correspondentes aos 0, 5 e 10 dias de cultivo, respectivamente, e mantiveram-se constantes após este período.

Segundo Lopes (1988), as contaminações bacterianas são mais drásticas que as fúngicas e trazem duas consequências básicas: a primeira e a perda de tempo e

de recursos financeiros ou genéticos pela eliminação de frascos contaminados, e a segunda e o risco de contaminação de outras plantas.

Quanto a baixa porcentagem de sobrevivência e estabelecimento, Sato et al. (2001) também apresentaram certa dificuldade no estabelecimento para espécies lenhosas, os autores acreditam que seja em decorrência, principalmente, da oxidação e da contaminação. Resultados diferentes foram encontrados por Erig & Fortes (2002), que trabalhando com meristemas de pereira verificaram 95% de estabelecimento aos 45 dias de cultivo *in vitro*, independente da época de isolamento. E também por Erig & Schuch (2005), que no estabelecimento *in vitro* de mirtilo cv. 'Florida', obtiveram médias de 88,64% de sobrevivência, independente da constituição dos fitorreguladores utilizados, e 70,74% de estabelecimento quando utilizaram o meio de cultura WPM acrescido de 24,6µM de 2iP.

## CONCLUSÕES

A utilização do PVP em oliveira 'Grappolo 541' não apresentou resultados satisfatórios para a redução da oxidação.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

## REFERÊNCIAS

AUGUSTO, C. S. S.; BIASI, L. A. Micropropagação da Amoreira-Preta cv. Brazos. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.3, n.1-2, p.113-132, 2002.

BIASI, L.A. Micropropagação de videiras. In: POMMER, C.V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p.320-350.

BRAGA, M.F.; SÁ, M.E.L.; MUSTAFÁ, P.C. Evaluation of a commercial protocol for *in vitro* multiplication of banana (*Musa sp*) cv. Caipira (AAA). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, vol.23, n.2, p.215-219, 2001.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452001000200002>.

BRASIL. **Projeto de Lei de 2012**. Disponível em:  
<[http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/prop\\_mostrarintegra;jsessionid=1504C](http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra;jsessionid=1504C)



CC0687D763D8C1F06CA23003F74.node1?codteor=965690&filename=PL+3260/2012>. Acesso em: 24 jul 2017.

CORRÊA, M.J.P.; RODRIGUEZ, M.I.G.; ARNAL, A. O. Caracterización histoquímica de la etapa temprana del desarrollo del fruto del olivo (*Olea europaea* L.). **Acta Botânica Brasilica**, Belo Horizonte, v.16, n.1, p.77-82, 2002.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062002000100009>.

DIAS, M. M; NIETSCHE, S; PEREIRA, M. C. T. Carvão ativado e estiolamento no estabelecimento in vitro de romãzeira. **Tecnologia e ciência agropecuária**, João Pessoa, v.7, n.1, p. 1-5, mar 2013.

DONINI, L.P. **Estabelecimento e multiplicação in vitro de oliveira para início da micropropagação** 2009. 106f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

DONINI, L.P.; SCHUCH, M.W.; RIBEIRO, M.F.; SOUZA, J.A.; SOARES, G.C. Estabelecimento in vitro de oliveira cv. 'Arbequina' para início da micropropagação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.6, 2008.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000600045>.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L)** sistema de produção 16, 2009. 122p. Disponível em: <[http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/catalogo/tipo/sistemas/sistema16\\_novo/11\\_mercados\\_e\\_comercializacao.htm](http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/catalogo/tipo/sistemas/sistema16_novo/11_mercados_e_comercializacao.htm)>. Acesso em: 25 de janeiro de 2018.

ERIG, A.C.; FORTES, G.R.L. Estabelecimento de pereira (*Pyrus spp.*) in vitro a partir de meristemas e gemas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.4, p.577-582, 2002.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782002000400005>.

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Estabelecimento in vitro de mirtilo a partir de segmentos nodais. **Scientia Agrária**, Curitiba, v.6, n.2, p.91-96, 2005.

DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v6i1.4603>.

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Tipo de explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento in vitro de plantas de macieira (*Malus domestica* BORKH.) cvs. Galaxy, Maxigala e Mastergala. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.9, n.3, p.221-227, 2003.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18539/cast.v9i3.635>.

FIGUEREDO, S. F. L.; ALBARELLO, N.; VIANA, V. R. C. Micropropagation of *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill. **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, Wallingford, v. 37, n. 4, p. 471-475, 2001.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11627-001-0083-1>.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONAL - FAO. Faostat - **Estatistical database**, 2011. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação, p. 183-260. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S.; Buso, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**, v. 1. 1998.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 452p. 2004.

LIMA, J. D.; MORAES, W. S. Concentração de benzilaminopurina e avaliação de protocolo para multiplicação *in vitro* de genótipos de bananeira. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 36 n.1 p. 13-19, 2006.

DOI: 10.5216/pat.v36i1.2164

LOPES, C.A. Contaminações bacterianas em cultura de tecidos. **ABCTP Notícias**, v.13, p. 35-40. 1988.

MONACO, L. C.; SÖNDAHL, M. R.; CARVALHO, A.; CROCOMO, O. J.; SHARP, W. R. Application of tissue culture in the improvement of coffee. In Reinhard, E. and Y. P S. Bajaj, editors. eds. **Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture**, Berlin Springer, p.109–129. 1977.

MOREIRA, R. M. **Estabelecimento *in vitro* de cultivares de oliveira**. 2014. 83f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

NETO, J.V.; CANÇADO, G.M.A.; OLIVIERA, A.F.; MESQUITA, H.A.; LÚCIO, A.D.; SILVA, L.F.O. Fertilizantes na produção de mudas de oliveira 'Arbequina'. **Scientia agraria**, Curitiba, v.11, n.1, p.49-55, 2010.

DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v11i1.15943>

OLIVEIRA, A.F.; PASQUAL, M.; CHALFUN, N.N.J.; REGINA, M.D.A.; RINCÓN, C.D.R. Influência do número de nós em estacas de oliveira (*Olea europaea* L.) no enraizamento sob câmara de nebulização. **Ciência Agrotecnológica**, Lavras, v.27, n.2, p.332-338, 2003.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542003000200012>.

OLIVEIRA, H.S., O.F. LEMOS, V.S. MIRANDA, H.C.P. MOURA, M.F. CAMPELO E L.R.R. SANTOS. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de brotos no processo de micropropagação de cultivares de bananeira (*Musa* spp.). **Acta Amazônica**, Manaus, v.41, n.3, p.369-376, 2011.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672011000300006>.

OLIVEIRA, A.F.; ABRAHÃO, E. Botânica e morfologia da oliveira (*Olea europaea* L.). **Informe agropecuário**, Rio Branco, v.27, n.231, p.13-17, 2006.

PASQUAL M; HOFFMANN, A; RAMOS J.D. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações - introdução: fundamentos básicos**. Lavras: UFLA/FAEPE. 159 pp. 1997.

RUGINI, E.; MUGANU, M.; BIASI, R.; AVERSA, G.; PANNELLI, G.; MAGGINI, F.; BIGNAMI, C.; BARBA, M.; ROMAGNOLI, B.; MARTELLI, G.P.; VENZI, L.; ZAMBONI, E.L. 'Organizzazione di un moderno vivaismo olivicolo alla base della produzione di piante certificate. **Frutticoltura**, Milano, v.5, p.11-24, 2001.

SATO, A.Y.; DIAS, H.C.T.; ANDRADE, L.A.; SOUZA, V.C. Micropropagação de *Celtis* sp: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, Lavras, v.7, p.117-123, 2001.

SCHUCH, M.W.; PEIL, R.M.N. Soilless cultivation systems: A new approach in fruit plants propagation in southern Brazil. **Acta Horticulturae**, The Hague, v.952, p.877-883, 2012.

DOI: [10.17660/ActaHortic.2012.952.111](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.952.111)

SILVA, L.C.D.; SCHUCH, M.W.; SOUZA, J.A.D.; ERIG, A.C.; ANTUNES, L.E.C. Efeito da iluminação e pré-lavagem das brotações de mirtilo cv. Florida no estabelecimento *in vitro*. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.13, n.1, p.127-129, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 918p. 2013.