GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE *Cattleya violacea* Rolfe *IN VITRO* EM MEIOS DE CULTURA ALTERNATIVOS

Clarice de Araújo Soares de Menezes[1]; Daniel Pereira Miranda[2]; Heloisa Rocha do Nascimento[3]; Nair Dahmer[4]; Isane Vera Karsburg[4]

1. Bióloga pela Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Alta Floresta-MT, Brasil.
2. Mestrando em Genética e Melhoramento na Universidade Federal de Viçosa – Viçosa – MG, Brasil.
3 Mestranda em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa – Viçosa – MG, Brasil
4. Profa Dra da Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Alta Floresta - MT, Brasil (isane9@gmail.com)

Recebido em: 31/03/2015 – Aprovado em: 15/05/2015 – Publicado em: 01/06/2015

RESUMO

A família Orchidaceae apresenta mais de 25.000 espécies e outros tantos milhares de híbridos. Objetivou-se com este trabalho realizar a propagação *in vitro* de C*atleya violacea* em meios de cultura alternativos a fim de obter desenvolvimento de plantas. As sementes desta espécie foram semeadas em sete meios alternativos em frascos contendo 100 mL de meio, todos acrescidos de fertilizante, açúcar, agar e água e pH 5,5. Os frascos foram mantidos em sala climatizada, durante o processo de germinação das sementes foram avaliados, a constituição do meio, velocidade de germinação e desenvolvimento dos protocormos. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, nas análises foram realizadas cinco repetições de cada meio de cultura destes em quatro meios foram medidos 20 protocormos da base foliar até a base caulinar. Os resultados foram avaliados pelo teste de Tukey a 5% de significância. Após 40 dias de semeadura os meios de cultura 2, 3 e 5 iniciaram o processo de germinação. No meio 4 a germinação das sementes iniciou após 50 dias e o meio 1 após 60 dias. As sementes do meio 8 germinaram após 5 meses e as dos meios 6 e 7 não germinaram. As avaliações das plântulas foram realizadas após 5 meses da inoculação das sementes nos meios de cultura. Os meios de cultura 3 e 4 foram superiores à testemunha, sendo que os meios 2 e 5 apresentaram os melhores resultados. Os meios 6 e 7 não propiciaram o desenvolvimento de plântulas ao final do experimento.

PALAVRAS- CHAVE: Cultura de tecidos, Orquidaceae, Sementes.

GERMINATION AND DEVELOPMENT *Cattleya violacea* Rolfe *IN VITRO* CULTURE OF ALTERNATIVE MEANS.

ABSTRACT

The orchid family features more than 25,000 species and as many thousands of hybrids. The objective of this work is to realize the in vitro propagation of *Catleya violacea* in alternative culture media in order to get development plans. The seeds of this species were seeded into seven alternative means into flasks containing 100 ml of medium added every fertilizer, sugar, water and agar and pH 5.5. The vials were kept in a room during the process of seed germination were evaluated, the constitution of the medium, rapid germination and development of protocorms. The design was completely randomized in the analysis were five repetitions of each culture medium of these four media were measured 20 protocorms leaf base to the base stem. The results were evaluated by the Tukey test at 5% significance level. After 40 days of sowing culture media 2, 3 and 5 have begun to germinate. In the middle of 4 seed germination started after 50 days and the medium 1 after 60 days. The seeds of the medium 8 germinated after 5 months and media 6 and 7 did not germinate. Evaluations of plantlets were performed after 5 months of seed inoculation in the culture media. Culture media 3 and 4 were higher than the control, and the means 2 and 5 showed the best results. The means 6 and 7 did not promote the development of seedlings at the experiment

KEYWORDS: Tissue culture, Orquidaceae, seeds.

INTRODUÇÃO

Orquídeas são encontradas numa variedade muito grande de habitats, em quase todos os tipos exceto nos oceanos. Suas formas biológicas podem ser aéreas, epifíticas, rupícolas e terrestres, podendo ser também folículas, mirmecófilas ou completamente subterrâneas (SILVA & SILVA, 2010).

A orquídea *Cattleya violacea* é uma espécie epífita nativa, não endêmica do Brasil, pode ser encontrada em Estados das regiões Norte (Amazonas, Pará, Rondônia e Roraima), Centro-Oeste (Mato Grosso) e Sudeste (Minas Gerais) (BARROS et al., 2011). Cresce sobre troncos em mata de terra firme ou inundável, é uma planta bifoliada com folhas coriáceas, possui pseudobulbo oblongo e a inflorescência sai da base das folhas e pode conter até cinco flores (LUIZ & FRANCO, 2012).

Para as sementes de orquídeas germinarem, necessitam fazer associação com fungos micorrízicos, os quais tem a capacidade de fornecer os nutrientes necessários para germinação das sementes (RASMUSSEN, 2002). Porém em 1922 o pesquisador Lewis Knudson conseguiu germinar sementes de orquídeas em meio de cultura assimbiótico. O meio de cultura Knudson (KC) está entre os meios mais utilizados na micropropagação de plantas e conforme STANCATO et al., (2008) é um meio de cultura mundialmente conhecido, empregado na micropropagação de orquídeas epífitas e terrestres, proporcionando crescimento vigoroso a maioria das espécies de orquídeas, com pequenas concentrações de macro e micronutrientes.

Segundo SU et al., (2012), meios de cultura alternativos são uma das estratégias para reduzir os custos de produção e serem técnicas viáveis para o crescimento e desenvolvimento de orquídeas, pela simplicidade de sua utilização. Muitos autores utilizam polpa de frutas na micropropagação de orquídeas, como a

polpa de banana (PASQUAL et al., 2009; VIEIRA, et al., 2009; SU et al., 2012), polpa de tomate (BRAHM et al., 2006; STANCATO et al., 2008) e a água de coco em sua composição (ARAÚJO et al., 2006; KAUR & BHUTANI, 2012; MIRANDA et al., 2014), visando aumentar a eficiência da propagação de orquídeas i*n vitro* e tornar o meio de cultura mais acessível economicamente.

SUZUKI et al., (2009), citam que existem vários estudos que visam melhorar a propagação de orquídeas e o domínio de seu cultivo, já que muitas de suas espécies estão ameaçadas de extinção, preservando-as, evitando assim sua extinção.

O trabalho objetivou avaliar o desempenho dos meios de cultura alternativos em relação ao meio Knudson para germinação e desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya violacea*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade do Estado de Mato Grosso– *Campus* de Alta Floresta – MT. Foram utilizadas sementes de uma cápsula (fruto) da espécie de orquídea *Cattleya violacea*.

A cápsula foi brevemente esterilizada com hipoclorito de sódio (2,5%) durante cinco minutos. Após a cápsula foi aberta na capela de fluxo laminar e retiradas as sementes colocando-as em becker com 100 mL de água destilada estéril com hipoclorito a 0,5%. Os frascos utilizados para o cultivo *in vitro* foram do tipo pote com capacidade de 500 mL fechados com papel alumínio, estes continham 100 mL de meio. Todos os meios de cultura foram ajustados para pH 5,5 e autoclavados por 25 min a 120ºC e 1,5 atm. As sementes desta cápsula foram semeadas com auxílio de uma seringa estéril em sete meios alternativos e um meio Knudson (1922) nos frascos e foram fechados com esparadrapo micropore e vedados com filme plástico PVC. Os frascos foram mantidos em sala climatizada acondicionados em prateleiras de metal. Durante o processo de germinação das sementes foram avaliados, a constituição do meio, velocidade de germinação e desenvolvimento dos protocormos. Os meios utilizados estão relacionados no quadro 1.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, nas análises foram realizadas cinco repetições de cada meio de cultura. Destes em quatro meios foram medidos 20 protocormos da base foliar até a base caulinar com auxílio de um paquímetro digital. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância por meio do programa SISVAR (FERREIRA, 2011), e as médias submetidas ao teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

QUADRO 1. Composição dos meios de cultura alternativos e o Meio KC (Knudson C. 1946). Alta Floresta, MT.

Componentes utilizados em todos os meios de cultura	mg/L, g/L ou mL/L
Adubo B & G	3 g
Açúcar	30 g
Agar	3 g
Meio 01	
Banana	100 g
Meio 02	
Banana	100 g
Carvão ativado	2 g
Meio 03	
Água de coco	200 mL
Meio 04	
Suco de tomate	100 mL
Meio 05	
Suco de tomate	100 mL
Carvão ativado	2 g
Meio 06	
Água de coco	200 mL
Carvão ativado	2 g
Meio 07	
Suco de tomate	200 mL
Água de coco	200 mL
MEIO 08 KC (Knudson C, 1946)	
Sulfato de Amônia – $(NH_4)_2\ SO_4$	5.1g
Sulfato de Magnésio – $MgSO_4$. $7H_2O$	7.4 g
Nitrato de Cálcio – Ca(NO3)2. 4H2PO4	10 g
Fosfato de Potássio – KH_2PO_4	25g
Sulfato de Ferro – $FeSO_4$. $7H_2PO_4$	25 g
Sulfato de Manganês – $MnSO_4$. H_2O	7,5 g
Glicose	10 g

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 40 dias de semeadura os meios de cultura com banana + carvão ativado, água de coco e suco de tomate + carvão ativado, iniciaram o processo de germinação. No meio contendo apenas suco de tomate a germinação das sementes iniciou após 50 dias e o meio contendo banana após 60 dias. As sementes do meio Knudson germinaram após 150 dias e as dos meios com água de coco + carvão ativado e suco de tomate + água de coco não germinaram. O meio Knudson, segundo FERREIRA (2011), possibilitou a germinação das sementes de *Cattleya aurantiaca* após 30 dias de germinação. Para a orquídea *Brassocattleya* Pastoral alba 'Innocence' em meio Knudson e B&G, ambos com e sem carvão ativado, apenas o meio B&G possibilitou a germinação, desenvolvimento de protocormos e plântulas após 120 dias da semeadura (NASCIMENTO et al., 2010). O meio

Knudson possibilitou a germinação das sementes no referido trabalho após 120 dias, concordando com os resultados obtidos.

Percebe-se uma alta diferença entre os resultados no período de germinação em cada meio de cultura, evidenciando que a espécie reage de forma diferenciada, tais resultados concordam com o que FORTES & PEREIRA (2001) afirmaram, os mesmos mencionam que as técnicas de cultivo *in vitro* devem ser adaptadas para as diferentes espécies, já que, estas são geneticamente diferentes, podendo apresentar resultados diferentes sob as mesmas condições de cultivo.

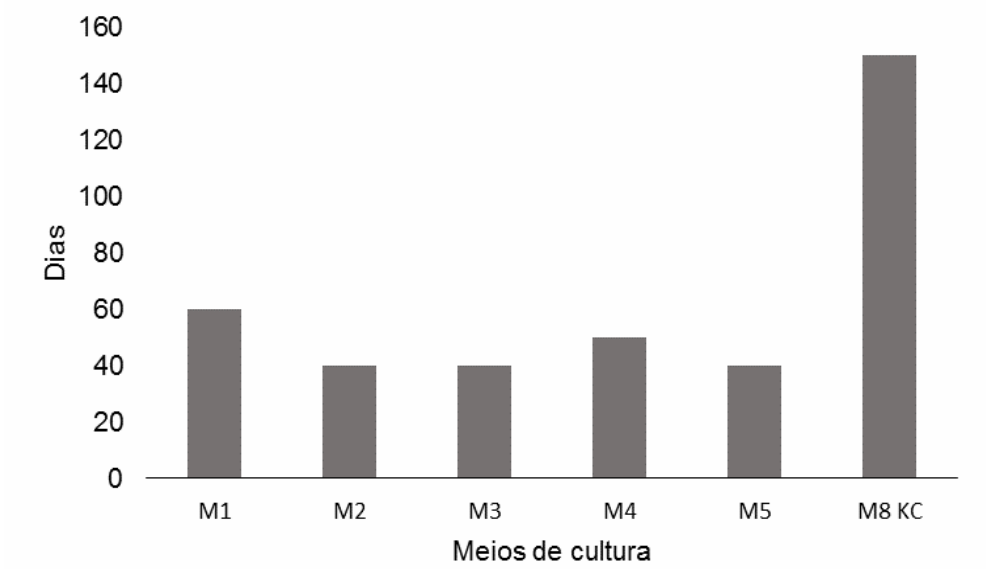

FIGURA 1. Tempo de germinação (dias) de *Cattleya violacea* em diferentes meios de cultura. Alta Floresta, MT.

Houve diferença significativa entre os meios de cultura testados quanto ao desenvolvimento (Tabela 1). Os meios de cultura contendo banana + carvão ativado, água de coco, suco de tomate e suco de tomate + carvão ativado foram superiores à testemunha, sendo que o meio com suco de tomate + carvão ativado apresentou o melhor resultado. Os meios acrescidos de água de coco + carvão ativado e suco de tomate + água de coco não propiciaram o desenvolvimento de plântulas ao final do experimento.

TABELA 1. Avaliação do desenvolvimento de *Cattleya violacea* das plântulas após 5 meses de germinação em cinco meios alternativos. Alta Floresta, MT.

Tratamentos	**Média do protocormo (mm)**
Meio 1 - banana	0,55 e
Meio 2 - banana e carvão ativado	5,98 b
Meio 3 - água de coco	4,04 c
Meio 4 - suco de tomate	2,21 d
Meio 5 - suco de tomate e carvão ativado	6,95 a
Meio 6 - água de coco e carvão ativado	0,00 e
Meio 7 - suco de tomate e água de coco	0,00 e
Meio 8 - meio KC	0,00 e
Valor de F (%)	216,16**
DMS	0,91
CV (%)	15,73

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. ** significativo pelo teste F a 5%. DMS: Diferença mínima significativa. C.V.: Coeficiente de variação.

A provável razão para o meio 5 apresentar melhores resultados pode ser decorrente da adição do tomate, sendo que este tem em sua composição diversas substâncias tais como manganês (0,07 mg), fosforo (20 mg), ferro (0,2 mg), cálcio (7 mg), magnésio (11 mg), vitamina C (21,2 mg) entre outros elementos. O potássio é o mais abundante com cerca de 222 mg em 100 gramas de tomate (NEPA- NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO, 2011). Este elemento é essencial na promoção da germinação e divisão celular (FIGUEIREDO et al., 2007). O meio de cultura com banana + carvão ativado foi o segundo melhor meio e conforme a NEPA (2011) a banana apresenta em sua composição vários elementos, assim como o tomate ela é rica em potássio com cerca de 376 mg em 100 gramas de polpa e outros elementos como manganês (0,14 mg), fosforo (27 mg), ferro (0,3 mg), cálcio (3 mg), magnésio (28 mg), vitamina C (5,9 mg). Os resultados citados concordam perfeitamente com os resultados encontrados por BRAHM et al., (2006), verificando que o meio alternativo contendo 60 g L^{-1} de tomate se sobressaiu para o crescimento e desenvolvimento *in vitro* da orquídea *Schomburgkia sp.,* seguido pelo meio contendo banana na mesma concentração.

A polpa de banana, conforme SHIAU et al., (2002), foi excelente na micropropagação da orquídea *Anoectochilus formosanus,* adicionando 8% de polpa de banana homogeneizada e 0,2% de carvão ativado ao meio MS, contribuindo principalmente em ganhos de massa fresca, com valor de 352% acima da testemunha. Promoveu também bons resultados para a espécie *Cattleya loddigesii* em meio de cultura Knudson para sua multiplicação *in vitro*, obtendo como dose ótima a concentração de 128,42 g L^{-1} de banana nanica (PASQUAL et al., 2009). Os autores ainda citam o aumento da parte aérea da orquídea no meio de cultura KC contendo 200 g L^{-1} de polpa de banana e 6 g L^{-1} de ágar. De acordo com VIEIRA et al., (2009) o meio de cultura com 100 g L^{-1} de polpa de banana em meio MS, foi considerado um dos melhores meios em relação à matéria fresca *in vitro* do cruzamento entre *Cattleya labiata x Cattleya forbesii*.

O carvão ativado junto a água de coco influenciou negativamente a germinação das sementes. ARAGÃO et al., (2001), citam que 100 mL de água de coco possui: 4,4 g de glicose; 0,37 mg de proteínas; 0,6 mg de fósforo; 175 mg de potássio; 15,5 mg de cálcio; 8,5 mg de magnésio; 10,5 mg de sódio; 0,06 mg de ferro e 57 mg de vitamina C. Outros trabalhos relatam que o carvão ativado beneficiou a germinação de algumas espécies de orquídeas do gênero *Catasetum* como *C. saccatum* (MIRANDA et al., 2013a), *C. juruenense* (MIRANDA et al., 2013b) e *C.* spitzii (MIRANDA et al., 2013c), onde os meios de cultura acrescidos de carvão ativado proporcionaram menor tempo de germinação das sementes e desenvolvimento de protocormos na maioria dos pHs testados (4,5; 5,0; 5,5 e 6,0), porém a quantidade utilizada de água de coco foi a metade em todos os referidos trabalhos.

Os resultados do meio com água de coco + carvão divergem de SOARES et al., (2013), os mesmos relatam que houve um bom crescimento da orquídea *Dendrobium nobile* em meio de cultura alternativo em relação a testemunha, verificando que a melhor concentração de água de coco foi 200 mL L^{-1}, a mesma quantidade utilizada nos meios de cultura contendo água de coco. A água de coco na concentração de 100 mL L^{-1} também foi benéfica para o maior desenvolvimento *in vitro* de folhas da orquídea *Cattleya loddgesii* ‘Grande’ x *Cattleya loddgesii* ‘Alba’ junto ao carvão ativado (2g L^{-1}) em meio de cultura KC (ARAÚJO et al., 2006).

TOMAZ et al., (2001) relataram que o carvão ativado teve efeito negativo na germinação de embriões de citros de seleta vermelha. Neste estudo, os autores observaram que o carvão ativado adsorve compostos que estão envolvidos no processo de germinação. Parte dos meios de cultura alternativos apresentaram-se melhores para a propagação de *Cattleya violacea* em relação ao meio Knudson, constatando a eficiência de meios alternativos para propagação de espécies de orquidáceas.

CONCLUSÃO

Dentre os oito meios de cultura testados para germinação e crescimento inicial de plântulas, o meio de cultura contendo 100 ml L^{-1} de suco de tomate e 2g L^{-1} carvão ativado foi o mais satisfatório para tais variáveis.

REFERÊNCIAS

ARAGÃO, W. M; ISBERNER, I.V; CRUZ, E. M. O. **Água de coco**. Aracaju: Embrapa CPATC/Tabuleiros Costeiros, **Série Documentos**, v1. 2001, 32p.

ARAÚJO, A. G. DE.; PASQUAL, M.; VILLA, F.; COSTA, F. C. Água de coco e polpa de banana no cultivo *in vitro* de plântulas de orquídea. **Revista Ceres**, v. 53, n. 310, p. 608-613, 2006.

BARROS, F. de; VINHOS, F.; RODRIGUES, V. T.; BARBERENA, F. F. V. A.; FRAGA, C. N.; PESSOA, E. M.; FORSTER, W.; MENINI NETO, L.; FURTADO, S. G.; NARDY, C.; AZEVEDO, C.O.; GUIMARÃES, L. R. S. *Orchidaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB31788>. Acesso em: 19 Fev. 2015

BRAHM, R. U.; GOMES, J. C. C.; BOSENBEC-KER, V. K. Meios de cultura alternativos para o crescimento e desenvolvimento de orquídeas *in vitro*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v.1, n.1, p. 623-626, 2006.

FIGUEIREDO, M. A., SANTOS, F. M. dos, COSTA e SILVA, J. O. de, COSTA, F. H. S., PASQUAL, M. Variações no Meio de Cultura sobre o Crescimento *in vitro* em Híbrido de Orquídea. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, supl. 2, p. 294-296, jul. 2007.

FERREIRA, D. A. T. **Germinação e desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya - aurantiaca* Bateman ex Lindley em meio de cultura alternativo com diferentes concentrações de extrato do licor pirolenhoso.** 2011.18f. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas)- Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta.

FORTES, G. R. L.; PEREIRA, J. E. S. Estabelecimento *in vitro* da ameixeira cv. América. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 183-185, 2001.

KAUR, S.; BHUTANI, K. K. Organic growth supplement stimulants for *in vitro* multiplication of *cymbidium pendulum* (Roxb.) Sw. **Hort. Sci. (Prague)**, v. 39, n. 1, p.

47-52, 2012.

KNUDSON L. Non-symbiotic germination of orchid seed**. Botanical Gazette**, v. p. 73:1-25, 1922.

LUZ, J.; FRANCO, J. **Orquídeas de Roraima**. Brasília, DF: Embrapa, 2012, 181p.

MIRANDA, D.P.; VIEIRA, A. KARSBURG, I. V. Crescimento *in vitro* de *Catasetum x apolloi* Benelli & Grade (Orchidaceae) em meio de cultura com adição de licor pirolenhoso de teca (*Tectona grandis)*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 1088-1096, 2014.

MIRANDA, D. P; VIEIRA, A; KARSBURG, I. V. Influência do pH na germinação *in vitro* de *Catasetum spitzzi* (Orchidaceae) em meios de cultura alternativos. *In*: 5º jornada científica da UNEMAT, Cáceres. 2013c Disponível em :<http://siec.unemat.br/anais/conic/impressao-resumo_expandido.php?fxev=MA==&fxid=MTcyMA==&fxcod=OTM3Ng==&fxdl=I> Acesso em: 27 jan. 2015.

MIRANDA, D.P.; MELLO, V. DOS SANTOS. de.; VIEIRA, A.; SILVA, A. B. DA.; KARSBURG, I. V. Variações do pH na germinação *in vitro* de *Catasetum saccatum* Lindley (Orchidaceae) em meios de cultura alternativos. *In*: Congresso Brasileiro de Agronomia, XXVIII, 2013, Cuiabá. ***Anais****...*Cuiabá, 2013a, CD.

MIRANDA, D.P.; VIEIRA, A.; MELLO, V. DOS SANTOS. de.; TEIXEIRA, A. D.; KARSBURG, I. V. Germinação *in vitro* de *Catasetum juruenense* Hoehne (Orchidaceae) com variações de pH. *In*: Seminário de Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, 1, 2013b, Alta Floresta. ***Anais****...* Alta Floresta. Universidade do Estado de Mato Grosso. CD.

NASCIMENTO, H. R; COSTA, L.G; FERNANDES, L; KARSBURG, I.V. Germinação *in vitro* de sementes de *Brassocattleya* Pastoral alba 'Innocence' em meio de cultura alternativo. *In:* III Semana da Biologia- Unemat, 3, 2010, Alta Floresta. ***Anais****...*Alta Floresta. Universidade do Estado de Mato Grosso. CD.

NEPA. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4º ed. Campinas: Gráfica: BookEditora, 2011, 161p.

PASQUAL, M.; DE FIGUEIREDO, M. A.; DE REZENDE, J. C.; DE ARAÚJO, A. G.; SANTOS, F. C.; FERREIRA, E. A.; JUNQUEIRA, K. P. Fontes de nitrogênio, polpa de banana e ágar no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de orquídea. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 211-216, 2009.

RASMUSSEN, H.N. Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. **Plant soil**, Netherlands, v.244, p.149-163, 2002.

SHIAU, Y. J.; SAGARE, A. P. L.; CHEN, U. C.; YANG, S. R.; TSAY, H.S. Conservation of *Anoectochilus formosanus* Hayata by artificial cross-pollination and in vitro culture of seeds. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v.43,

p.123-130, 2002.

SILVA, M. F. F Da.; SILVA, J. B. F. da. **Orquídeas nativas da Amazônia brasileira**, 2º edição. Ver. Belém, 2010, 526p.

SOARES, J. S.; ROSA, Y. B. C. J.; SUZIKI, R. M.; SCALON, S. P. Q.; ROSA JUNIOR, E. J. Cultivo *in vitro* de *Dendrobium nobile* com uso de água de coco no meio de cultura. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 63-67, 2013.

STANCATO, G. C.; ABREU, M. F.; FURLANI, A. M. C. Crescimento de orquídeas epífitas *in vitro*: adição de polpa de frutas. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 1, p. 51-57, 2008.

SU, J. M. SCHNITZER, J. A.; DE FARIA, R. T. Polpa de banana e fertilizantes comerciais no cultivo *in vitro* de orquídea. **Científica**, Jaboticabal, v. 40, n. 1, p. 28-34, 2012.

SUZUKI, R.M.; MOREIRA, V. C.; NAKABASHI, M.; FERREIRA W. M. Estudo da germinação e crescimento *in vitro* de *Hadrolaelia tenebrosa* (Rolfe) Chiron & V.P. Castro (Orchidaceae), uma espécie da flora brasileira ameaçada de extinção. **Hoehnea**, São Paulo, v, 36, n. 4, p. 657-666, 2009.

TOMAZ, M. L.; MENDES, B. M.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; DEMÉTRIO, C. B.; JANSAKUL, N.; RODRIGUEZ, A. P. M. Somatic embryogenesis in *Citrus* spp: carbohydrate stimulation and histodifferentiation. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 37, n. 4, p. 446-452, 2001.

VIEIRA, J. G. Z.; UNEMOTO, L. K.; YAMAKAMI, J. K.; NAGASHIMA, G. T.; DE FARIA, R. T.; DE AGUIAR, R. S. Propagação *in vitro* e aclimatização de um híbrido de *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) utilizando polpa de banana e água de coco. **Científica**, Jaboticabal, v.37, n. 1, p. 48-52, 2009.