

## ***Cultivo in vitro de Anacardium othonianum Rizz oriundos de diferentes municípios e concentrações de MS***

O cajuzinho-arbóreo-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz) é uma frutífera originária do Cerrado brasileiro. Observa-se um aumento expressivo na demanda por mudas de espécies nativas do cerrado por agricultores, empresas alimentícias e farmacêuticas. Entretanto, há pouca informação sobre técnicas de propagações de cajuzinho, entre elas, a produção in vitro torna-se uma técnica bastante promissora, todavia, há uma grande limitação de informações de produção in vitro a partir de sementes, justificando a busca de estratégias para a sua propagação. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o cultivo in vitro de *A. othonianum* provenientes de distintos municípios e concentrações de sais do meio Murashige & Skoog (MS). Para avaliar o cultivo foram semeadas sementes de cajuzinho-arbóreo-do-cerrado provenientes de três municípios do estado de Goiás: Silvânia, Vianópolis e Orizona, em quatro concentrações de meio MS: 100, 75, 50 e 25 %, utilizando o delineamento inteiramente casualizado, conduzido em arranjo fatorial 3 x 4 em vinte repetições. Foram realizadas avaliações diárias observando a ocorrência de oxidação, contaminação, sobrevivência e germinação. Os dados foram submetidos a análise estatística a partir de intervalos de 95% de confiança do software R versão 3.5.2. Concluiu-se que os meios MS 50 e 25 % foram mais eficientes na sobrevivência e germinação de *A. othonianum*.

**Palavras-chave:** Caju-arbóreo-do-cerrado; Culturas de tecidos; Meio de cultura.

## ***In vitro crop of Anacardium othonianum Rizz from different municipalities and MS concentrations***

The cajuzinho-arbóreo-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz) is a fruit originating from the Brazilian Cerrado. There is a significant increase in the demand for seedlings of native cerrado species by farmers, food companies and pharmaceutical companies. However, there is little information about techniques of cashew propagation, among them, in vitro production becomes a very promising technique, however, there is a great limitation of in vitro production from seeds, justifying the search for strategies for its spread. Thus, the objective of this research was to evaluate the in vitro cultivation of *A. othonianum* from different municipalities and salt concentrations of Murashige & Skoog (MS). In order to evaluate the cultivation, seeds of Cerrado cashew tree were sown from three municipalities of the state of Goiás: Silvânia, Vianópolis and Orizona, in four concentrations of MS medium: 100, 75, 50 and 25%, using a completely randomized design. randomized, conducted in a 3 x 4 factorial arrangement in twenty repetitions. Daily evaluations were performed observing the occurrence of oxidation, contamination, survival and germination. Data were subjected to statistical analysis from 95% confidence intervals of software R version 3.5.2. It was concluded that MS 50 and 25% media were more efficient in *A. othonianum* survival and germination.

**Keywords:** Cerrado arboreal cashew; Tissue crops; Culture medium.

Topic: **Conservação da Biodiversidade**

Received: **02/10/2019**

Approved: **26/11/2019**

Reviewed anonymously in the process of blind peer.

Ana Flavia de Jesus Pinto 

Instituto Federal Goiano, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/6338082904943098>

<http://orcid.org/0000-0001-9539-0344>

[anaflavia15@gmail.com](mailto:anaflavia15@gmail.com)

Wellington José Pereira 

Instituto Federal Goiano, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/3768969688629850>

<http://orcid.org/0000-0002-5897-636X>

[wellingtonjpereira74@gmail.com](mailto:wellingtonjpereira74@gmail.com)

Cinthia Luzia Teixeira Silva 

Universidade Estadual de Goiás, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/9036428344570368>

<http://orcid.org/0000-0003-0740-1301>

[cinthiateixeirasilva@gmail.com](mailto:cinthiateixeirasilva@gmail.com)

Gabriel Quirino Benicio 

Instituto Federal Goiano, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/3210270630745671>

<http://orcid.org/0000-0002-5146-1937>

[gabrielbenice@hotmail.com](mailto:gabrielbenice@hotmail.com)

Carla Geovanna Caixeta Issa 

Instituto Federal Goiano, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/9048424130070161>

<http://orcid.org/0000-0001-7431-2160>

[carlaissa@gmail.com](mailto:carlaissa@gmail.com)

Milton Luiz da Paz Lima 

Instituto Federal Goiano, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/5855441591915163>

<http://orcid.org/0000-0003-3537-550X>

[milton.lima@ifgoiano.edu.br](mailto:milton.lima@ifgoiano.edu.br)

Muza do Carmo Vieira 

Instituto Federal Goiano, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/3892400622755069>

<http://orcid.org/0000-0003-1730-9541>

[mvcmuza@gmail.com](mailto:mvcmuza@gmail.com)

Ana Paula Silva Siqueira 

Instituto Federal Goiano, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/9196173964141153>

<http://orcid.org/0000-0003-3292-5836>

[ana.siqueira@ifgoiano.edu.br](mailto:ana.siqueira@ifgoiano.edu.br)



DOI: 10.6008/CBPC2179-6858.2019.006.0009

### Referencing this:

PINTO, A. F. J.; PEREIRA, W. J.; SILVA, C. L. T.; BENICIO, G. Q.; ISSA, C. G. C.; LIMA, M. L. P.; VIEIRA, M. C.; SIQUEIRA, A. P. S.. Cultivo in vitro de *Anacardium othonianum* Rizz oriundos de diferentes municípios e concentrações de MS. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v.10, n.6, p.92-100, 2019. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2019.006.0009>

## INTRODUÇÃO

O cajuzinho-arbóreo-do-cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz), é uma espécie originária do Cerrado brasileiro da família Anacardiaceae, que possui diversas denominações: cajueiro-do-cerrado, caju-arbóreo-do-cerrado, cajuí ou cajuzinho. É bem conhecida no Cerrado do Planalto Central Brasileiro, habitando as áreas de cerradão e campo sujo (MENDONÇA et al., 1998; SILVA et al., 2017).

Definida com porte arbóreo, altura entre 3 m e 6 m, folhas coriáceas que medem 12-17 cm x 8-11 cm, apresentam base subcordata, e frutos de 15-20 mm x 12-15 mm, suas flores são hermafroditas e unissexuais, sendo assim, as masculinas aparecem no início da floração, e as hermafroditas no fim (RIZZINI, 1969; AGOSTINI-COSTA et al., 2010). O pseudofruto do cajuzinho-arbóreo-do-cerrado é largamente utilizado na culinária, mesmo que apresentando elevada acidez, sendo aproveitado para consumo '*in natura*', ou para preparo de licores, doces, sucos, e infusões em aguardente (CORRÊA et al., 2008; SILVA, 2019).

Atualmente tem-se um aumento no interesse e demanda por mudas de espécies nativas do cerrado por agricultores e empresas alimentícias, farmacêuticas (SOUZA et al., 2007; DORNELLES et al., 2014). E neste sentido conhecer as técnicas sobre a propagação de uma espécie nativa é indispensável para a definição da tecnologia de exploração racional (CAETANO et al., 2012).

Plantas do gênero *Anacardium* comumente se propagam sexuadamente. Contudo, a assincronia no amadurecimento do fruto, germinação anormal em condições naturais e em viveiros são atributos negativos para a obtenção de mudas uniformes. O aproveitamento dessa planta em programas de implantação de pomares comerciais requer a produção contínua e em larga escala de mudas uniformes. Assim, a técnica de micropropagação é uma alternativa viável para contornar as dificuldades de multiplicação da espécie pelos métodos convencionais (PINHAL et al., 2011; ASSIS et al., 2012; SOUSA et al., 2017).

A micropropagação tem colaborado significativamente para a propagação e preservação de espécies de várias espécies de plantas. Apesar das várias etapas envolvidas no processo, o protocolo de micropropagação, uma vez estipulado para uma determinada espécie, pode ser aprimorado para obter mudas de alta qualidade a baixo custo de produção. Estudos de micropropagação de espécies não muito conhecidas devem determinar o meio de cultura a ser utilizado, pois os meios de cultura, além de oferecerem elementos essenciais para o crescimento, também controlam o padrão de desenvolvimento *in vitro* (GRATTAPAGLIA et al., 1998).

Diversos protocolos de meios básicos têm sido utilizados para o cultivo *in vitro*. Não existe uma fórmula padrão, mas o meio MS Murashige et al. (1962) tem sido usado com sucesso, com várias modificações e diluições, para várias espécies (ASSIS et al., 2012). Diante do exposto, objetivou-se com este estudo avaliar o cultivo *in vitro* de *Anacardium othonianum* Rizz provenientes de distintos municípios e concentrações de meio MS.

## METODOLOGIA

Os frutos de cajuzinho-arbóreo-do-cerrado foram coletados nos municípios de Silvânia-GO (Latitude

16° 33' 20.4" S; Longitude 48° 31' 19.1" W), Vianópolis-GO (Latitude 16° 47' 37.4" S; Longitude 48° 16' 59.6" W) e Orizona-GO (Latitude 16° 48' 43.0" S; Longitude 48° 17' 36.1" W) em plantas matrizes de ocorrência em áreas de formação natural de Cerrado, isoladas em áreas de pastagens.

O material foi colhido manualmente e transportados para o Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí/GO (LABIOTEC) em bandejas de ovos para melhor acondicionamento. Nas dependências do LABIOTEC, foi realizada a separação dos frutos e pseudofrutos, e também uma limpeza superficial destes. Em seguida, os frutos foram colocados para secar em temperatura ambiente.

Após a secagem, os frutos foram acondicionados em saquinhos plásticos e armazenados em temperatura ambiente. Foram selecionados os frutos (semente) para inoculação, para isso foram colocados em recipiente com água, os frutos que ficaram ao fundo foram utilizados na semeadura e os que flutuaram foram descartados, para que estes frutos não prejudicassem a emergência dos demais devido a possíveis defeitos de qualidade (NOGUEIRA et al., 2007).

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 4, com vinte repetições, onde sementes oriundas de três cidades (Silvânia (SIL), Vianópolis (VPS) e Orizona (ORZ)) foram colocadas para germinação em quatro concentrações de meio de cultura Murashige et al. (1962) (MS) a 100, 75, 50 e 25%.

A desinfestação das sementes foi realizada em câmara de fluxo laminar com álcool 70,0% por 5 minutos, em seguida foram colocadas em hipoclorito de sódio 2,5% p/p por 30 minutos e em água oxigenada por 15 min, todos em constante agitação. Após a desinfestação, as sementes passaram por lavagem em água destilada por 4 vezes. Em uma câmara de fluxo laminar, as sementes foram inoculadas em frascos de vidro com 15 mL do meio de cultura MS, que é um meio universalmente usado especialmente para cultura de meristemas, morfogênese e regeneração de plantas, e caracteriza-se por uma elevada concentração em sais minerais (QUISEN et al., 2008). Após a inoculação, os frascos foram vedados com filme de PVC e colocados em prateleiras, em uma sala sob condições controladas de 2.000 lux de luminosidade e fotoperíodo de 16 horas.

Foram determinadas diariamente as seguintes variáveis: oxidação, contaminação (fungo, bactéria), sobrevivência e germinação. Para determinação do termino da avaliação foi estabelecido uma constante de equilíbrio em todos as repetições. Os dados de proporção de oxidação, contaminação, sobrevivência e germinação foram submetidos a análise de deviance a partir de um modelo linear generalizado binomial. Os locais de coleta e meio de cultura foram comparados a partir de intervalos de 95% de confiança. Após observar a presença de contaminações *in vitro*, 120 sementes foram mantidas por 14 dias acondicionadas em 10 caixas Gerbox sobre papel mata-borrão, em condições de umidade ideais para o desenvolvimento de microrganismos, que por sua vez foram identificados, e os dados de contagem de cada espécie de fungo foram submetidos a análise de deviance a partir de um modelo linear generalizado binomial, e a proporção de presença das espécies fúngicas foi comparada por meio de intervalos de 95% de confiança. As análises foram realizadas usando a função glm do software R versão 3.5.2 (R CORE TEAM, 2019).

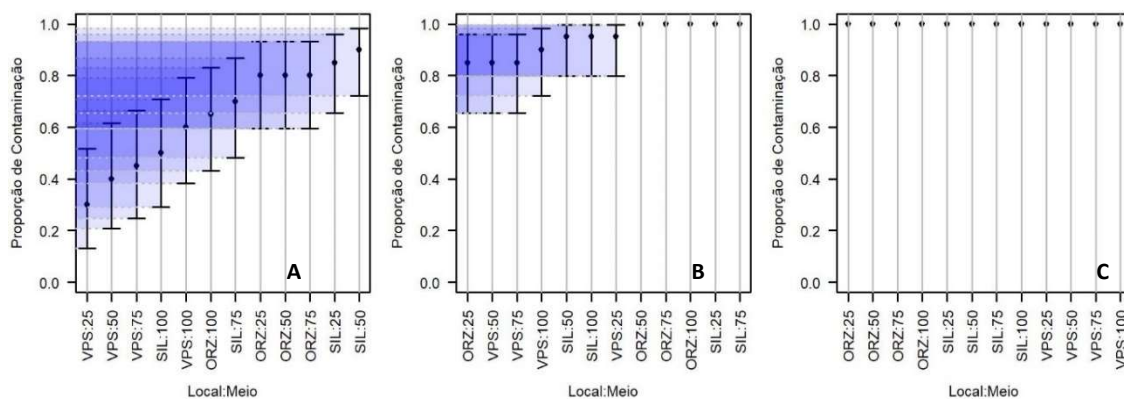
## RESULTADOS

Durante o experimento se observou que a proporção de oxidação não apresentou diferença estatística nos tratamentos (Tabela 1), ocorrendo oxidação em 100% dos explantes. No entanto, a liberação de fenóis não impediu a germinação das sementes nos tratamentos (Figura 3), mesmo com baixa regularidade.

**Tabela 1:** Valor p da análise de deviance para três locais de coleta, quatro concentração de meio de cultura em 21 dias avaliação (DAS).

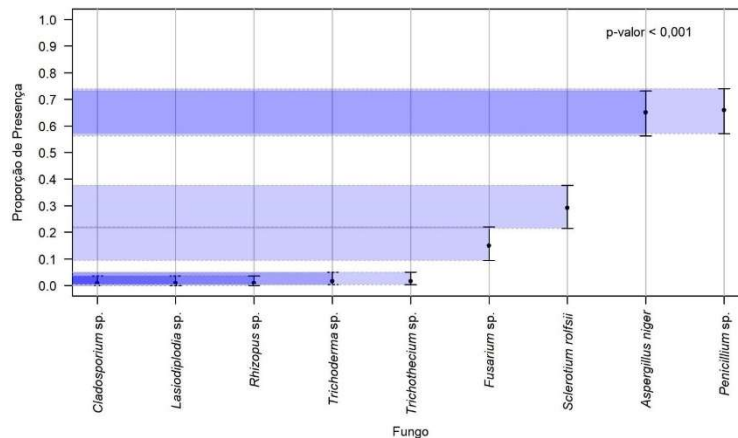
DAS	Oxidação	Contaminação	Sobrevivência	Germinação
1	1,000	1,000	1,000	1,000
2	1,000	0,000	1,000	1,000
3	1,000	0,058	1,000	0,778
4	1,000	1,000	1,000	0,006
5	1,000	1,000	1,000	0,000
6	1,000	1,000	1,000	0,000
7	1,000	1,000	1,000	0,005
8	1,000	1,000	0,001	0,009
9	1,000	1,000	0,004	0,014
10	1,000	1,000	0,002	0,014
11	1,000	1,000	0,008	0,014
12	1,000	1,000	0,004	0,014
13	1,000	1,000	0,003	0,014
14	1,000	1,000	0,002	0,014
15	1,000	1,000	0,002	0,014
16	1,000	1,000	0,002	0,014
17	1,000	1,000	0,001	0,014
18	1,000	1,000	0,001	0,014
19	1,000	1,000	0,001	0,014
20	1,000	1,000	0,000	0,014
21	1,000	1,000	0,000	0,014

Verificou-se diferença estatística na proporção de contaminação fúngica, se iniciando no segundo dia após a semeadura (DAS) (Tabela 1 e Figura 1:A) onde a concentração de MS 25% VPS apresentou uma menor contaminação (30%), já o tratamento MS 50% SIL apresentou 90% de contaminação. Este valor sofreu pouca variação, mas mantendo diferença estatísticas entre os tratamentos no terceiro dia de avaliação (Tabela 1 e Figura 1:B). No quarto dia de avaliação não houve diferença estatística entre os tratamentos, todos os tratamentos apresentaram contaminação de 100% (Tabela 1 e Figura 1:C).



**Figura 1:** Intervalos de 95% de confiança para os valores encontrados em unidades de Contaminação Fúngica em diferentes tempos (A) 2 DAS, (B) 3 DAS, (C) 4-21 DAS, caju arbóreo do cerrado *in vitro*. Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal Goiano Campus Urutaí- GO. Urutaí-GO, 2019.

A classificação taxonômica possibilitou a identificação das seguintes espécies presentes, *Penicillium* sp. (65,8%), *Aspergillus niger* (65,0%), *Sclerotium rolfsii* (23,2%), *Fusarium* sp. (15,0%), *Trichothecium* sp. (1,7%), *Trichoderma* sp. (1,7%), *Rhizopus* sp. (0,8%), *Lasiodiplodia* sp. (0,8%) e *Cladosporium* sp. (0,8%). Dentre as espécies encontradas, não houve diferenças estatísticas entre *Penicillium* sp. e *Aspergillus niger*, entre *Sclerotium rolfsii* e *Fusarium* sp., e entre *Trichothecium* sp., *Trichoderma* sp., *Rhizopus* sp., *Lasiodiplodia* sp. e *Cladosporium* sp, estes últimos pouco expressivos (Figura 2).



**Figura 2:** Intervalos de 95% de confiança de Proporção de Presença de 9 espécies de fungo encontradas em sementes de *Anacardium othonianum* Rizz.

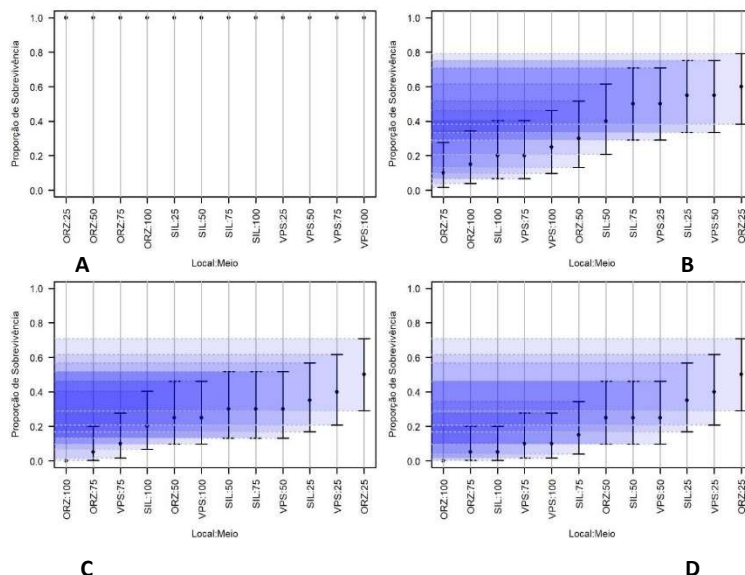
Na proporção de sobrevivência é possível observar que não houve diferença estatística nos tratamentos, mantendo-se constante até ao sétimo dia de avaliação (DAS), com 100% de sobrevivência (Tabela 1 e Figura 3:A) mesmo com a contaminação de alguns meios de cultura. Já no oitavo dia de avaliação (DAS) é possível verificar que há diferença estatística entre os tratamentos com a proporção de p-valor 0,001 (Tabela 1). Sendo a maior sobrevivência no tratamento MS 25 % ORZ (60 %) e a menor no meio MS 75% ORZ (10%) (Figura 3:B).

Ao décimo quarto dia de avaliação foi possível notar diferença estatística entre os tratamentos com p-valor de 0,002 (Tabela 1). O meio MS 100% ORZ já não se encontrou com taxa de sobrevivência, enquanto no meio MS 75% ORZ notou-se uma baixa porcentagem de sobrevivência (7%), mas o tratamento MS 25 % ORZ encontrou-se com taxa maior que aos demais (55%) (Figura 3:C).

Para a última época de avaliação, vigésimo primeiro dia (DAS) não houve diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 1 e Figura 3:D). Entretanto, é possível constatar que houve uma diminuição expressiva na sobrevivência onde os meios MS 75% e 100%, independente do município, apresentaram sobrevivência abaixo de 20%. Enquanto para os meio MS 25 % e 50% notou-se uma taxa superior a 25% de sobrevivência.

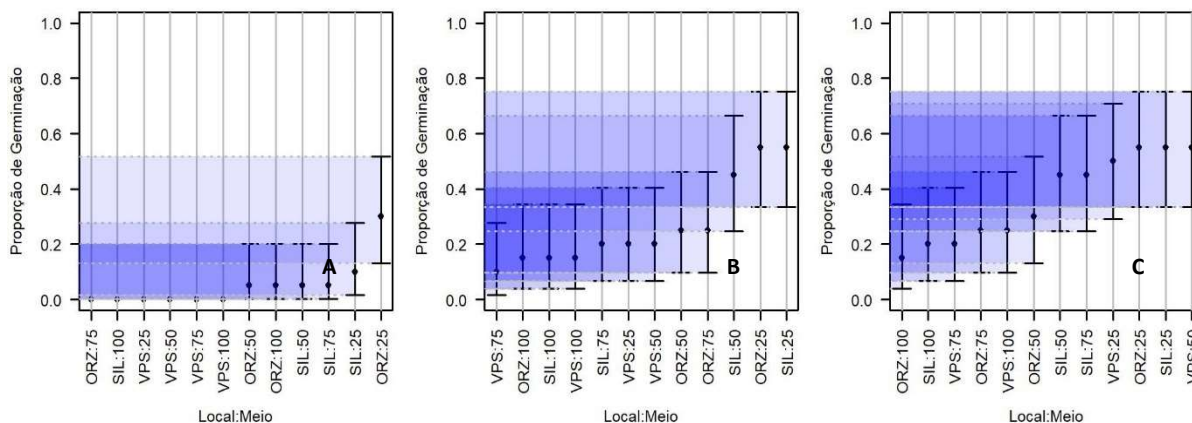
Para a germinação nota-se que ela começa ao terceiro dia de avaliação (DAS), porém os tratamentos começam a se diferenciar no quarto dia de avaliação, com o p-valor de 0,006 (Tabela 1 e Figura 4:A) e com a maior porcentagem de germinação no tratamento MS 25% ORZ (30%). No sétimo dia de avaliação (DAS) a diferença estatística entre os tratamentos continuou, com p-valor de 0,005 (Tabela 1 e Figura 4:B). Os dois tratamentos que obtiveram maior porcentagem de germinação (50%) foram nas concentrações de MS 25%

SIL e MS 25% ORZ, ao mesmo tempo que a menor porcentagem de germinação (10%) foi no MS 75% VPS.



**Figura 3:** Intervalos de 95% de confiança para os valores encontrados em Sobrevivência em diferentes tempos (A) 1-7 DAS, (B) 8 DAS, (C) 14 DAS, (D) 21 DAS de caju arbóreo do cerrado *in vitro*. Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal Goiano Campus Urutaí/GO. Urutaí/GO, 2019.

Já o nono dia de avaliação ao vigésimo primeiro foi verificado que houve diferença estatística entre os tratamentos com o p-valor de 0,014 (Tabela 1 e Figura 4:C). Sendo possível notar que os tratamentos que mantiveram proporções maiores foram de 25% e 50% indiferente do município, onde a menor porcentagem destes foi de 45% a 50 % de germinação das sementes.



**Figura 4.** Intervalos de 95% de confiança para os valores encontrados em Germinação em diferentes tempos (A) 4 DAS, (B) 7 DAS, (C) 9-21 DAS de caju arbóreo do cerrado *in vitro*. Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal Goiano Campus Urutaí/GO. Urutaí/GO, 2019.

## DISCUSSÃO

Sobre o processo de oxidação, Andrade et al. (2000), Sato et al. (2001) e Sousa et al. (2017) afirmam que o processo de oxidação se dá pela resposta da liberação de compostos fenólicos pelo tecido. Estes compostos são oxidados pelas enzimas polifenoloxidasas, provocando o a produção de substâncias tóxicas que inibem o desenvolvimento dos explantes. Bezerra et al. (2014) justificam devidos os compostos apresentados na oxidação estes podem afetar na baixa frequência de brotações dos explantes. Rezende et

al. (2015) reafirmaram que o cultivo *in vitro* é uma técnica que proporciona em curto prazo a obtenção de clones, mas para isso deve-se ter umas culturas assépticas e livres de oxidação fenólica.

A presença de fungos também foi observada por Vargas et al. (2016), entre eles: *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. e *Cryptococcus* sp. em cultivo de porta enxerto de pessegueiro. Monfort et al. (2015) destaca que a contaminação do explante *in vitro* é grande empecilho no estabelecimento de uma cultura primária, a tornando difícil para a multiplicação. Já Moraes et al. (2010) ressaltam que ao longo do cultivo *in vitro* é regular ocorrer perdas devido a contaminação de microrganismos que estão presentes na superfície do explante ou são endofíticos, principalmente fungos.

Sabe-se que a frequência de contaminação é maior no momento que se realiza a micropropagação de espécies lenhosas ou assepsia de difícil êxito e por fim explantes localizados em regiões da planta matriz próximas do solo (SUZIN, 2004; MORAES et al., 2010), que é um fator confirmado em sementes de caju, que são originárias de plantas matrizes lenhosas e suas sementes foram coletadas no solo, mesmo que assepsia foi efetuada, esta não foi obtida com sucesso na inviabilização dos fungos endofíticos presentes nas sementes. Que com o passar dos dias esta contaminação foi de nível crescente, e suas estruturas começam a danificar a estrutura do meio de cultura, que é um fator de limitante para a germinação das sementes e seu desenvolvimento.

Assis et al. (2011) avaliando rendimento de explantes e estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Anacardium othonianum* Rizz., oriundos de sementes armazenadas por diferentes períodos, destacam que a pulverização de fungicidas em plantas fornecedoras de explantes favorece a mitigação da contaminação e auxilia no protocolo de assepsia.

No quesito sobrevivência dos explantes, Espinel et al. (2017) em estudos de estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Amaranthus cruentus* L., cv. BRS Alegria verificaram a maior porcentagem de sobrevivência para o meio de cultivo MS 50%. Um dos fatores a ser listados na taxa de sobrevivência é a contaminação fúngica, associada a oxidação fenólica que inviabilizou a sobrevivência dos explantes, alguns até germinaram, mas devido a contaminação e oxidação estes explantes foram impedidos de completar a fase de desenvolvimento na germinação. Vargas et al. (2016) demonstraram que a aumento dos microrganismos e da degradação de agentes bactericidas e fungicidas tem interferência na diminuição da taxa de sobrevivência dos explantes.

Os resultados de germinação deste estudo corroboram com os obtidos por Assis et al. (2012), que avaliando o cultivo *in vitro* de *Anacardium othonianum* Rizz sob o efeito da concentração de sais e do volume do meio de cultura, perceberam que os meios que apresentaram maior valor nos comprimentos de plântula e maior número de folhas, foram os meios de 25 e 50% e o menos eficaz foi de 100%. A germinação é um resultado de todos os conjuntos analisados desde oxidação, contaminação e sobrevivência. Para que esta tenha um êxito no final da avaliação deve-se ter o melhor controle dos fatores anteriores. Nela também pode ser visualizado que, os municípios não foram um fator de diferenciação e sim as concentrações de sais de 25 e 50%.

Araruna et al. (2017) em estudos de concentrações de sais no meio de cultura para o

desenvolvimento de *Dipteryx alata in vitro* constatou que o meio MS 25% é superior ao WPM em qualquer concentração de sais. A diminuição de sais é comumente benéfica para o crescimento de cultura de espécies lenhosas, sendo confirmado por alguns autores que estudaram o crescimento *in vitro* de *Anacardium occidentale* (THIMMAPPAIAH et al., 2002; LEDO et al., 2007; RADMANN et al., 2009a; 2009b; ASSIS et al., 2012). Existe, portanto, a possibilidade de reduzir a concentração de sais do meio MS, para diversas espécies, obtendo melhor desenvolvimento das plantas e redução nos custos de produção (George et al., 1984).

## CONCLUSÕES

Os meios nas concentrações MS 50 e 25 % foram mais eficazes para em sobrevivência e germinação *in vitro* de *Anacardium othonianum*, sendo sugerido para utilização visando a melhor economia. Em relação sementes oriundas de diferentes municípios, estas não influenciam nos processos do cultivo *in vitro*.

## REFERÊNCIAS

AGOSTINI-COSTA, T. S.; FARIA, J. P.; NAVES, R. V.; VIEIRA, R. F.. Cajus do Cerrado. In: VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A.; SILVA, D. B.; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R.. **Frutas nativas da região Centro-Oeste**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. p.143-162

ANDRADE, M. W.; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S.; MELO, P. R. A.. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, n.1, p.174-80, 2000.

ARARUNA, E. C.; RIBEIRO-OLIVEIRA, J. P.; PEREIRA, V. J.; ASMAR, S. A.; MELO, B.. Salt concentrations *in culture* media for the development of *Dipteryx alata in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.52, n.12, p.1295-1300, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2017001200020>

ASSIS, K. C.; PEREIRA, F. D.; SANTOS, S. C.; SILVA, F. G.; SILVA, A. F.; MENEZES, C. C. E.. Rendimento de explantes e estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais de *Anacardium othonianum* Rizz. oriundos de sementes armazenadas por diferentes períodos. **Ciência e Tecnologia**, v.4, n.1, p.1-7, 2011.

ASSIS, K. C.; PEREIRA, F. D.; CABRAL, J. S. R.; SILVA, F. G.; SILVA, J. W.; SANTOS, S. C.. *In vitro* cultivation of *Anacardium othonianum* Rizz.: effects of salt concentrate on and culture medium volume. **Acta Scientiarum**, v.34, n.1, p.77-83, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1807-86212012000100011>

BEZERRA, R. M. F.; ALOUFA, M. A. I.; FREIRE, F. A. M.; SANTOS, D. D.. Efeito de 6-Benzilaminopurina sobre a propagação *in vitro* de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Fabaceae). **Revista Árvore**, v.38, n.5, p.771-778, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622014000500001>

CAETANO, G. S.; SOUSA, K. A.; RESENDE, O.; SALES, J. F.; COSTA, L. M.. Higroscopicidade de sementes de caju-de-árvore-do-cerrado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.42, n.4, 2012. DOI: <http://doi.org.10.1590/S1983-40632012000400012>

CORRÊA, G. C.; NAVES, R. B.; ROCHA, M. R.; CHAVES, L. J. E.; BORGES, J. D.. Determinações físicas em frutos e sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.), cajuzinho (*Anacardium*

*othonianum* Rizz.) e pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) visando melhoramento genético. **Bioscience Journal**, v.24, n.4, p.42-47, 2008.

DORNELLES, P.; SILVA, F. G.; MOTA, C. S.; SANTANA, J. das G.. Production and quality of *Anacardium othonianum* Rizz. seedlings grown on different substrates. **Brasileira de Fruticultura**, v.36, n.2, p.479-486, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-144/13>

ESPINEL, G.; ARMESTO, R. S.; KLEINOWKI, A. M.; DEUNER, S.; BRAGA, E. J. B.. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Amaranthus cruentus* L., cv. BRS Alegria. In: JORNADA DA PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA - CONGREGA, 14. **Anais**. Bagé: URCAMP, 2017.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D.. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics, 1984.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A.. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A.. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. p.183-260

LEDO, A. S.; SECA, G. S. V.; BARBOZA, S. B. S. C.; SILVA JUNIOR, J. F.. Crescimento inicial de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de germinação *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.4, p.989-993, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542007000400007>

MENDONÇA, R. C.; FELFILE, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JUNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E.. Flora vascular do cerrado. In: S. M. SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.. **Cerrado ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. p.289-306

MONFORT, L. E. F.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; ROSSI, Z. T. T.; LIMA, A. F.; SILVA, S. T.; SILVA, G. M.. Micropropagation and *in vitro* seed germination of *Atroveran*. **Ceres**, v.62, n.2, p.215-223, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201562020012>

MORAES, C. F.; SUZIN, M.; NIENOW, A. A.; GRANDO, M. F.; MANTOVANI, N.; CALVETE, E. O.; DONIDA, B. T.. Germinação



in vitro de sementes de alcachofra. **Horticultura Brasileira**, v.28, n.1, p.64-69, 2010.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures.

**Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

NOGUEIRA, A. C.; MEDEIROS, A. C. S.. **Extração e Beneficiamento de Sementes Florestais Nativas**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007.

PINHAL, H. F.; ANASTÁCIO, M. R.; CARNEIRO, P. A. P.; SILVA, V. J.; MORAIS, T. P.; LUIZ, J. M. Q.. Aplicações de cultura de tecidos vegetais em fruteira do cerrado. **Ciência Rural**, v.41, n.7, p.1136-1142, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782011005000089>

QUISEN, R.; ÂNGELO, P.. **Manual de procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2019.

RADMANN, E. B.; BIANCHI, V. J.; OLIVEIRA, R. P.; FACHINELLO, J. C.. Multiplicação in vitro e alongamento das brotações micropropagadas do porta-enxerto Tsukuba (*Prunus persica* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.3, p.656-663, 2009a. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452009000300006>

RADMANN, E. B.; BIANCHI, V. J.; SOUZA, T. M.; FACHINELLO, J. C.; OLIVEIRA, R. P.. Influência da composição do meio de cultivo e do tipo de explante na micropropagação do porta-enxerto de *Prunus* sp.. **Scientia Agraria**, v.10, n.2, p.95-101, 2009b. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/rsa.v10i2.13573>

RESENDE, C. F.; BIANCHETTI, R. E.; OLIVEIRA, A. M. S de; BRAGA, V. F.; PEIXOTO, P. H. P.. In vitro propagation and acclimatization of *Lippia rotundifolia*, na endemic species of Brazilian Campos Rupestres. **Revista Ciência Agronômica**, v.46, n.3, p.582-589, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20150041>

RIZZINI, C. T.. Espécies novas de árvores do Planalto Central Brasileiro. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.41, n.2, p.239-244, 1969.

SATO, A. Y.; DIAS, H. C. T.; ANDRADE, L. A.; SOUZA, C. V.. Micropropagação de *Celtis* sp.: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, v.7, n.2, p.117-123, 2001.

SILVA, L. A.; SALES, J. F.; NEVES, J. M. G.; SANTOS, H. O.; SILVA, G. P.. Radiographic image analysis in achenes of *Anacardium othonianum* Rizz (anacardiaceae) submitted to drying. **Acta Scientiarum**, v.39, n.2, p.235-244, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v39i2.32484>

SILVA, A. L. L. E.. **Avaliação do consumo regular de suco de caju do cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) Por indivíduos saudáveis**. Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-graduação em Tecnologia em Alimentos) - Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2019.

SOUSA, I. D.; SOUSA, J. B.; PEREIRA, F. D.; SANTANA, J. G.; NETO, A. R.; ASSIS, E. S.. Composição do meio de cultivo para produção de microplantas de caju-de-árvore-do-Cerrado (*Anacardium othonianum* Rizz.) **Revista Científica**, v.1, n.5, p.1-10, 2017.

SOUZA, O. A.; NASCIMENTO, J. L.; NAVES, R. V.; BORGES, J. D.. Propagação sexuada de pequi (*Caryocar brasiliense* (Camb.))): efeito da procedência de frutos e do ácido giberélico na emergência de plântulas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.37, n.3, p.131-136, 2007.

SUZIN, M.. **Microrganismos e sua relação com plantas**. Monografia (Especialização) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2004.

THIMMAPPAIAH, R. A.; SHIRLY; SADHANA, P. H.. Propagação in vitro do cajueiro de árvores jovens. **Vitro Cellular and Development Biology**, v.38, n.2, p.152-156, 2002.

VARGAS, D. P.; FORMOSO, R. S.; DUTRA, L. F.; MAYER, N. A.; SANTOS, J. UENO. B.. Esterilização química para o cultivo in vitro de porta-enxerto de pessegueiro. **Colloquium Agrariae**, v.12, n.1, p.1-6, 2016.

A CBPC – Companhia Brasileira de Produção Científica (CNPJ: 11.221.422/0001-03) detém os direitos materiais desta publicação. Os direitos referem-se à publicação do trabalho em qualquer parte do mundo, incluindo os direitos às renovações, expansões e disseminações da contribuição, bem como outros direitos subsidiários. Todos os trabalhos publicados eletronicamente poderão posteriormente ser publicados em coletâneas impressas sob coordenação da **Sustenere Publishing**, da Companhia Brasileira de Produção Científica e seus parceiros autorizados. Os (as) autores (as) preservam os direitos autorais, mas não têm permissão para a publicação da contribuição em outro meio, impresso ou digital, em português ou em tradução.