



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Gabriel Menegusso Girardello

**Influência das citocininas BAP e meta-Topolina na organogênese *in vitro* de
Feijoa sellowiana (Berg)**

Florianópolis

2022

Gabriel Menegusso Girardello

**Influência das citocininas BAP e meta-Topolina na organogênese *in vitro* de
Feijoa sellowiana (Berg)**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Miguel Pedro Guerra
Coorientador: Dr. Yohan Fritsche

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Girardello, Gabriel Menegusso

Influência das citocininas BAP e meta-Topolina na organogênese in vitro de Feijoa sellowiana (Berg) / Gabriel Menegusso Girardello ; orientador, Miguel Pedro Guerra, coorientador, Yohan Fritsche, 2022.

48 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Myrtaceae. 3. Feijoa. 4. Cultura de tecidos vegetais. 5. Micropropagação. I. Guerra, Miguel Pedro. II. Fritsche, Yohan. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Gabriel Menegusso Girardello

**Influência das citocininas BAP e meta-topolina na organogênese *in vitro* de
Feijoa sellowiana (Berg)**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de
“Licenciado em Ciências Biológicas” e aprovado em sua forma final pelo Curso de
Licenciatura em Ciências Biológicas.

Florianópolis, 01 de dezembro de 2022.

Insira neste espaço
a assinatura

Coordenação do Curso
Prof.^a Dr.^a Daniela de Toni

Banca examinadora

Insira neste espaço
a assinatura

Prof. Dr. Miguel Pedro Guerra
Orientador

Insira neste espaço
a assinatura

Prof.^a Dr.^a Rosete Pescador
Universidade Federal de Santa Catarina

Insira neste espaço
a assinatura

Dr. Thiago Sanches Ornellas

Florianópolis, 2022

AGRADECIMENTOS

Esta conquista carrega referência, exemplo, direção e isso vem da base, minha família, que constantemente lutaram para me proporcionar a conquista dos meus objetivos. Por isso, agradeço aos meus pais, Carla e Marco; e avós, Ernestina e Lourdes, e os dedico este trabalho.

Além disso, não poderia deixar de agradecer outras pessoas importantes que me auxiliaram na pavimentação do meu caminho nessa jornada. Gostaria de agradecer à Beatriz, minha companheira, por todo amor, compreensão e auxílio em achar saídas para os problemas enfrentados.

Ao meu orientador, Miguel Pedro Guerra, e demais professores, Rosete Pescador, Valdir Stefenon e Elisandro Ricardo Drechsler, que me abriram portas, confiaram no meu trabalho e possibilitaram o meu desenvolvimento acadêmico e pessoal, muito obrigado!

Agradecer também aos meus colegas de laboratório e grandes amigos Yohan e Thiago 'Organelas' por sempre renderem as conversas com os melhores *insights* e *brainstorms* sobre os assuntos mais variados, da vida até a estatística e o delineamento de novos trabalhos. À Suelen e Maria Eduarda pela paciência, pelos ensinamentos de bancada transmitidos através dos meus ICs e por terem sido parcerias produtivas nessa caminhada. Aos amigos proporcionados pela faculdade, Guilherme e Victor, sempre pontuais para o almoço do RU. E, por fim, ao meu amigo de infância, Igor 'Fígues', que sempre esteve disposto às aquelas conversas de peito aberto e boas risadas.

RESUMO

A diversificação alimentar através do uso de recursos genéticos vegetais nativos é um tema envolvido na pauta do Objetivo de Desenvolvimento Sustentável de número dois da ONU, que envolve a erradicação da fome e o desenvolvimento de uma agricultura sustentável. Nesse sentido, explorar a conservação e o desenvolvimento de cadeias produtivas para espécies nativas, tais como a *Feijoa sellowiana* (Berg) configuram estratégias para que aqueles objetivos sejam alcançados. Biotecnologias baseadas na cultura de tecidos vegetais são importantes ferramentas para superar gargalos em espécies com dificuldades em sua propagação vegetativa convencional, como o caso da Feijoa. O objetivo do presente trabalho foi testar a influência das citocininas BAP e mT na taxa de multiplicação *in vitro* da variedade *Helena* (SCS412). O estudo envolveu um experimento de noventa dias, onde estes segmentos nodais foram submetidos a diferentes concentrações de mT (0, 1, 2, 4 e 8 μM) e BAP (2 μM). As sementes utilizadas no trabalho foram cedidas pela EPAGRI e inoculadas em meio WPM para a germinação e crescimento por 13 semanas, atingindo o número de segmentos nodais necessários para implementação do experimento após este período. Posteriormente, segmentos nodais de $1,0 \pm 0,4$ cm foram retirados das plântulas e utilizados como explante. O experimento foi avaliado ao decorrer de 45 e 90 dias, de onde foram coletados dados produtivos e relativos à resposta morfogenética. Todos os tratamentos resultaram em taxas de multiplicação positivas. O uso do BAP (2 μM), no entanto, resultou nos valores mais elevados para as variáveis número de brotos e número de nós. O uso de mT na mesma concentração aumentou o tamanho dos brotos gerados e não inibiu a formação de raízes. Ainda, a mT empregada nas doses de 4 μM e 8 μM não foi eficiente para multiplicação de brotos e segmentos nodais. Assim, recomenda-se para multiplicação desta variedade via organogênese o uso do meio semissólido WPM suplementado com sacarose (30 g.L⁻¹) e 2 μM BAP.

Palavras-chave: Myrtaceae; Feijoa; Cultura de tecidos vegetais; Micropropagação.

ABSTRACT

Diet diversification through native plant genetic resources is one of the guidelines of the UN's Sustainable Development Goal number two, which involves the eradication of hunger and the development of sustainable agriculture. In this sense, exploring the conservation and development of production chains for native species, such as *Feijoa sellowiana* (Berg) configures a strategy to fulfill that objective. Biotechnologies based on plant tissue culture are important tools to overcome bottlenecks found in species with difficulties in their conventional vegetative propagation, as is the case of Feijoa. The objective of the present work was to test the influence of BAP and mT cytokinins on the in vitro multiplication rate of the *Helena* (SCS212) variety. The study involved a ninety-day experiment, where these nodal segments were cultured at different concentrations of mT (0, 1, 2, 4, and 8 μM) and BAP (2 μM). The seeds used in the work were provided by EPAGRI and inoculated in WPM medium for germination and growth for 13 weeks, reaching up to the number of nodal segments necessary for the implementation of the experiment after this period. Subsequently, nodal segments measuring $1,0 \pm 0,4$ cm were removed from the seedlings and used as an explant. The experiment was evaluated over 45 and 90 days, from which productive data and data related to the morphogenetic response were collected. All treatments resulted in positive multiplication rates. The use of BAP (2 μM), however, resulted in the highest values for the variables number of shoots and number of nodes. The use of mT at the same concentration increased the size of the generated shoots and did not inhibit root formation. Also, the mT used at 4 μM and 8 μM was inefficient for multiplying shoots and nodal segments. Thus, for the multiplication of this variety via organogenesis, the use of WPM semi-solid medium supplemented with sucrose (30 g.L^{-1}) and 2 μM BAP is recommended.

Keywords: Myrtaceae; Feijoa; Plant tissue culture; Micropropagation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - A espécie <i>Feijoa sellowiana</i> (Berg)	20
Figura 2 - Segmento nodal utilizado como explante para o experimento de multiplicação <i>in vitro</i> com <i>Feijoa sellowiana</i> (Berg).	30
Figura 3 - Cultivo <i>in vitro</i> de segmentos nodais de <i>Feijoa sellowiana</i> (Berg) em resposta aos diferentes tratamentos.	33
Figura 4 - Morfologia dos brotos de <i>Feijoa sellowiana</i> (Berg) cultivados <i>in vitro</i> em resposta às citocininas BAP e mT.	37
Figura 5 - Desenvolvimento anormal dos brotos de <i>Feijoa sellowiana</i> (Berg) cultivados <i>in vitro</i> em resposta à meta-topolina.	39
Figura 6 - Número de segmentos nodais gerados nos diferentes tratamentos ao longo de noventa dias de cultivo <i>in vitro</i> da variedade Helena (SCS412).	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Respostas morfogênicas <i>in vitro</i> de <i>Feijoa sellowiana</i> (Berg) sob influência das citocininas BAP e mT após 90 dias de cultivo.	32
Tabela 2 – Parâmetros produtivos do cultivo <i>in vitro</i> de segmentos nodais de <i>Feijoa sellowiana</i> (Berg) após 90 dias de cultivo.	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

atm	Atmosfera. Unidade de Pressão.
BAP	6-Benzilaminopurina
EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
MS	Meio nutritivo elaborado por Murashige & Skoog (1962)
mT	Meta-Topolina
TDZ	Thidiazuron
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
WPM	<i>Wood plant medium</i> . Meio nutritivo elaborado por Lloyd & McCown (1981)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	OBJETIVOS	18
1.1.1	Objetivo Geral	18
1.1.2	Objetivos específicos	18
2	DESENVOLVIMENTO	19
2.1	<i>DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE</i>	19
2.2	<i>HISTÓRICO, ORIGEM E DISPERSÃO MUNDIAL</i>	21
2.3	<i>VARIETADES DE FEIJOA</i>	22
2.4	<i>PRODUÇÃO DE MUDAS</i>	23
2.4.1	<i>Multiplicação vegetativa convencional</i>	24
2.4.2	Micropropagação	25
2.4.2.1	<i>Citocininas</i>	27
3	METODOLOGIA	29
3.1	OBTENÇÃO E ARMAZENAMENTO DAS SEMENTES.....	29
3.2	ASSEPSIA DO MATERIAL	29
3.3	GERMINAÇÃO DAS SEMENTES E SELEÇÃO DOS EXPLANTES.....	29
3.4	CURVA DE CONCENTRAÇÃO DE META-TOPOLINA.....	30
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1	EFEITO DO BAP E META-TOPOLINA NAS RESPOSTAS MORFOGÊNICAS <i>IN VITRO</i>	32
4.2	EFEITO DO BAP E META-TOPOLINA NA MULTIPLICAÇÃO <i>IN VITRO</i> ...34	34
5	CONCLUSÃO	41
	REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

Atualmente há uma tendência global de dietas cada vez mais uniformes e um exemplo disso é que a base alimentar mundial derivada de plantas é limitada a cerca de 20 espécies vegetais, que representam 90% das calorias consumidas no mundo (MASSAWE *et al.*, 2016). Dentre as principais consequências, observa-se a desvalorização da diversidade regional e o uso da terra para prática da agricultura intensiva, ameaçando a existência de espécies nativas. Ademais, a falta de diversificação nas culturas torna a agricultura e o abastecimento mundial de comida vulneráveis à pragas, doenças e mudanças climáticas (PINGALI, 2012). Portanto, explorar os recursos genéticos vegetais nativos para desenvolver cadeias produtivas ou utilizá-los em programas de melhoramento genético pode auxiliar na diversificação dos sistemas alimentares globais e tornam a agricultura mais sustentável, eficiente e resiliente.

No Brasil há grande diversidade florística, com mais de 56 mil espécies de plantas descritas (GIULIETTI *et al.*, 2005), sendo a região Sul local de ocorrência de importantes espécies frutíferas que possuem grande potencial para uso alimentar, encontrado ainda pouco explorado. Dentre as famílias de plantas que apresentam maior diversidade na região, *Myrtaceae* se destaca por possuir mais de 400 espécies, onde muitas delas se sobressaem por apresentarem frutos de alto valor nutricional com propriedades organolépticas, tais como a Pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), Cerejeira-do-Rio-Grande (*Eugenia involucrata* DC.), Jaboticabeira (*Plinia cauliflora* (Mart.) O.Berg), guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* O.Berg) e a Goiabeira-Serrana (*Feijoa sellowiana* (Berg) (LORENZI, 2006; SANTOS *et al.*, 2011).

Popularmente conhecida como Goiabeira-Serrana ou Feijoa, a *Feijoa sellowiana* é uma planta lenhosa de hábito arbustivo, nativa do planalto meridional e nordeste do Uruguai. Seus exemplares alcançam em média cinco metros de altura e produzem frutos de expressivo valor nutricional (MATTOS, 1986; ZHU, 2018). Junto a isso, a espécie apresenta características agrícolas interessantes para o produtor, tais como a resiliência à diferentes condições climáticas e a geadas, folhas persistentes, precocidade de produção, porte baixo, além da grande versatilidade de produtos que podem ser feitos a partir do processamento da fruta, conferindo a essa planta grande potencial de mercado (DUCROQUET *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 2011).

Apesar de haver aceitação por parte do consumidor brasileiro, o cultivo de Feijoa para produção comercial é consideravelmente explorado por países de onde não é nativa, como a Nova Zelândia, Colômbia e Estados Unidos (BARNI *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2011). Desta forma, com objetivo de valorizar as plantas nativas e utilizar a diversidade de recursos genéticos locais, ocorreu no estado de Santa Catarina um programa de melhoramento genético que gerou quatro cultivares comerciais da espécie: Alcântara (SCS411), Helena (SCS412), Mattos (SCS414) e Nonante (SCS415) (DUCROQUET, 2007; DUCROQUET, 2008).

Embora tenham sido desenvolvidas grande número de variedades de Feijoa ao redor do mundo, restam dificuldades na propagação da espécie. O principal entrave da produção de mudas por sementes tem relação com a grande variabilidade genética, resultante dos mecanismos reprodutivos da espécie, que origina pomares de produção heterogênea (AMARANTE & SANTOS, 2011). Além disso, assim como muitas mirtáceas para técnicas de propagação vegetativa baseadas na estaquia, a *Feijoa sellowiana* (Berg) se apresenta como uma espécie de difícil enraizamento (DUARTE *et al.*, 1992). Sendo assim, determinadas áreas da biotecnologia vegetal, como a cultura de tecidos, representam ferramentas úteis de grande potencial para propagação da espécie.

A cultura de tecidos vegetais, ou micropropagação, é uma técnica de cultivo *in vitro*, onde células, órgãos ou tecidos são separados da planta, desinfestados, e cultivados sob meio de cultura em condições controladas. Dentre as vantagens do uso da técnica de micropropagação pode-se citar o potencial de multiplicação em larga escala, obtenção de mudas livres de doenças e o armazenamento a longo prazo de espécies e variedades de interesse em espaço reduzido (GUPTA *et al.*, 2020; SCHWARZ & BEATY, 2018). Por conta das pesquisas realizadas com técnicas de propagação vegetativa tradicional para Feijoa resultarem em taxas variáveis de sobrevivência e enraizamento (BRESSANELLI, 2017; FRANZON *et al.*, 2004; PAVAN, 2013; SOUZA, 2014), a micropropagação pode ser explorada para produção em larga escala de mudas homogêneas da espécie.

A variedade escolhida para o presente estudo de micropropagação foi a Helena (SCS412), a qual apresenta como principais atributos fitotécnicos o porte baixo, extenso período de floração, precocidade e alto grau de produção (CIOTTA, 2020; DUCROQUET, 2007). Assim, o presente trabalho objetivou testar a influência das citocininas benzilaminopurina (BAP) e meta-topolina (mT) na micropropagação de

segmentos nodais da variedade Helena buscando desenvolver um protocolo de multiplicação em larga escala para atender as demandas de produtores que buscam expandir a cadeia produtiva dessa espécie.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Estudar a influência da meta-topolina (mT) e 6-benzilaminopurina (BAP) na micropropagação por meio da organogênese de *Feijoa sellowiana*, variedade Helena (SCS412).

1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar se a presença de citocininas afeta a sobrevivência dos segmentos nodais;
- Estimar se a taxa de multiplicação é alterada em resposta às citocininas BAP e mT.

2 DESENVOLVIMENTO

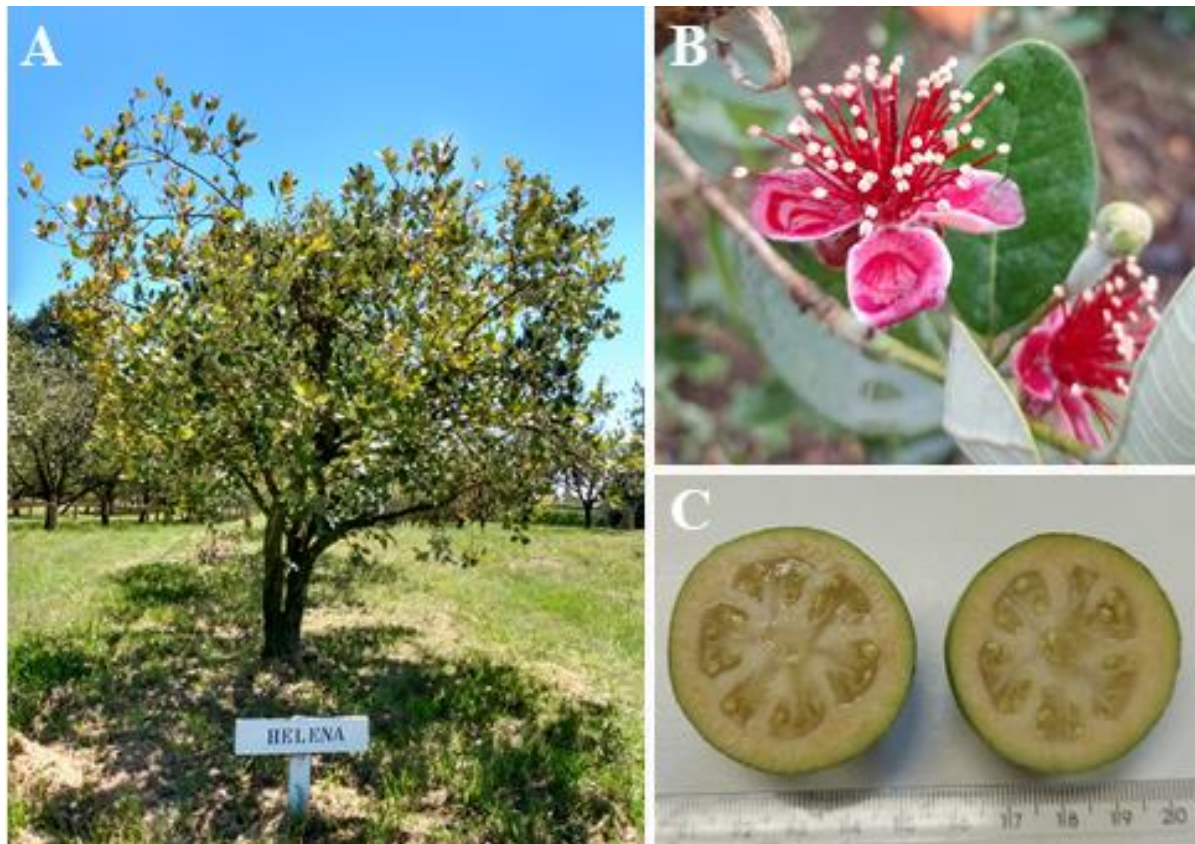
2.1 DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE

A Feijoa é uma dicotiledônea pertencente à ordem *Myrtales*, família *Myrtaceae*, subtribo *Pimentinae* e gênero *Feijoa* (Berg) (LUCAS *et al.* 2019). É uma planta lenhosa que apresenta hábito arbustivo (Figura 1 - A), de pequeno porte, com indivíduos de dois a dez metros de altura, atingindo em média cinco metros de altura. Dentre suas principais características, é um arbusto perenifólio caracterizado pelo seu tronco e ramificações tortuosas, possuindo ramos cilíndricos de onde saem folhas simples, opostas, coriáceas e discolores, com morfologia que se assemelha à Goiabeira (*Psidium guajava* L.) (DUCROQUET 2000; SANTOS *et al.*, 2011). No Brasil, é conhecida popularmente pelos nomes de Goiabeira Serrana, Goiaba-do-mato ou simplesmente Feijoa, sendo este último nome conhecido mundialmente. Não obstante, pode também ser chamada de Guayabo-del-País em outros países da América Latina e Pineapple Guava nos Estados Unidos.

Seus botões florais ocorrem solitários ou em cachos e dão origem a flores monóclinas apreciadas pelo seu potencial ornamental e alimentício (DUCROQUET, 2000). Em cada flor (Figura 1 - B) são observadas quatro sépalas discretas, quatro pétalas vistosas de cor branca na parte externa e púrpura na porção interna, cerca de 60 estames e um estilete (DUCROQUET, 2000; MATTOS, 1986). A reprodução da espécie apresenta mecanismos que favorecem a alogamia, observados pela diferença temporal na maturação das estruturas reprodutivas, onde o estigma se encontra receptivo antes da deiscência das anteras (DUCROQUET, 2000; STWEART, 1987). Além deste mecanismo de protoginia, estudos demonstraram a ocorrência predominante de autoincompatibilidade tardia nos indivíduos (SANTOS *et al.*, 2007). Devido sua arquitetura floral, os principais polinizadores das flores de Feijoa são pássaros das famílias *Thraupidae* e *Turdidae*, atraídos pelas pétalas vistosas e adocicadas, além de abelhas nativas, como a mamangava de toco (*Xylocopa frontalis*) e de chão (*Bombus atratus*) (DUCROQUET & HICKEL, 1997; HICKEL & DUCROQUET, 2000; STWEART, 1987).

Além da morfologia das folhas, a espécie produz frutos semelhantes em aparência e tamanho à Goiabeira (*Psidium guajava* L.). Os frutos de *Feijoa sellowiana* são classificados como pseudofrutos do tipo pomo, possuindo peso que varia entre 20 a 250 g, formato oblongo a redondo, casca verde não comestível com textura que varia de lisa a rugosa, diferenciando-se da goiaba pela sua polpa, de sabor doce-acidulado e coloração gelo (Figura 1 - C) (AMARANTE & SANTOS, 2011). Dentre as características nutritivas de interesse, os frutos de Feijoa apresentam grande quantidade de antioxidantes, como a vitamina C e polifenóis, minerais, como o potássio e iodo, além de outras substâncias organolépticas, como terpenos e flavonoides (MATTOS, 1986; ZHU, 2018). A presença desta composição de moléculas confere ao fruto e seus extratos propriedades bioativas antioxidantes, anti-inflamatórias, imunostimulantes e antimicrobianas (VUOTTO *et al.*, 2000; ZHU, 2018).

Figura 1 - A espécie *Feijoa sellowiana* (Berg)



A – Planta Adulta da variedade Helena (SCS412) no banco de germoplasma da EPAGRI; B – Flor monóclina; C – Interior do fruto.

Fonte: O autor.

2.2 HISTÓRICO, ORIGEM E DISPERSÃO MUNDIAL

Inicialmente classificada como *Orthostemon sellowianus* e *Orthostemon obovatus*, a Feijoa foi primeiramente descrita pelo botânico alemão Otto Berg, em 1856, como sendo duas espécies distintas. Nesse sentido, cabe ressaltar que a espécie passou por diferentes classificações até chegar na nomenclatura atual. Provavelmente as características distintas observadas por Otto Berg que o induziram a classificar a Feijoa como duas espécies eram resultantes de diferenças entre duas populações, a tipo “Uruguai” e tipo “Brasil”. Em análises posteriores, Berg reclassificou as espécies, unindo-as e realocando-a no gênero *Feijoa*, criado em homenagem ao cientista brasileiro João da Silva Feijó, passando a ser chamada de *Feijoa sellowiana* (O.Berg) O.Berg. Cerca de um século depois de sua primeira descrição, em 1941, outro botânico alemão, Maximilian Burret, reavaliou a nomenclatura, pois a espécie possuía similaridades nas estruturas florais e de sementes com duas plantas do gênero *Acca*, *A. lanuginosa* e *A. macostema* (Ruiz & Pavan ex. G. Don) Mc Vaugh (MITRA *et al.*, 2012; MORETTO *et al.*, 2014). No entanto, recentemente, após estudos filogenético-moleculares observou-se que o gênero *Acca* circunscrito da forma proposta por Burret não é monofilético (VASCONCELOS *et al.* 2017). Por conta disso, o gênero *Feijoa* foi restabelecido com uma única espécie, *F. sellowiana* (LUCAS *et al.* 2019).

Nativa do Sul do Brasil e Leste do Uruguai, a Feijoa apresenta centro de diversidade atrelado à estas duas regiões (THORP & BIELESKI, 2002). No entanto, ainda existem divergências quanto ao seu centro de origem e a extensão de sua distribuição, havendo dispersão registrada em outros países, como a Argentina e Paraguai (KELLER & TRESSENS, 2007; SANTOS *et al.*, 2011). Ducroquet (2000) descreveu a presença de duas populações de *Feijoa sellowiana* ocorrendo na América do Sul. Uma delas possui distribuição restrita às áreas altas (acima de 900 m) do Planalto Meridional nos estados do Sul do Brasil, sendo chamada de população tipo “Brasil”. Está atrelada à fitofisionomia da Floresta Ombrófila Mista e seus remanescentes, como características produz frutos e sementes maiores. A outra, tipo “Uruguai”, está presente em altitudes de 100 a 500 m e sua ocorrência é atrelada ao

Planalto Uruguaio Sul Riograndense, nas regiões do nordeste Uruguaio e sul do Rio Grande do Sul (DUCROQUET *et al.*, 2000).

A expansão desta planta ao redor do mundo foi iniciada por Édouard André no século XIX. O horticultor francês trouxe para Europa mudas de Feijoa advindas do Uruguai e enviou material para outros viveiristas espalhados ao redor do mundo, como o italiano Francesco Franceschi. Assim, a Feijoa foi disseminada para países como França, Itália, Espanha, Azerbaijão, Geórgia, Austrália e Nova Zelândia, Colômbia, além dos Estados Unidos, principalmente nos estados da Califórnia e Flórida (MORETTO, 2014). Observa-se, portanto, que apesar do grande potencial de desenvolvimento dessa cultura, a *Feijoa sellowiana* foi historicamente pouco explorada e consumida no Brasil, com uma produção pequena quando comparada aos outros países de onde não é nativa (AMARANTE & SANTOS, 2011).

2.3 VARIEDADES DE FEIJOA

Apesar da França ter sido o primeiro local a cultivar e selecionar a espécie, foram a Nova Zelândia e Estados Unidos os países que mais desenvolveram variedades. Logo, a partir de pouco material advindo do Uruguai, foram desenvolvidas variedades como a *Unique*, *Gemini* e *Apollo* na Nova Zelândia e *Coolidge*, *Choiceana* e *Superba* nos Estados Unidos (MORETTO, 2014).

No Brasil, desde 1986 a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) e a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) buscam explorar o potencial da diversidade genética para criação de variedades para produção nacional da goiabeira-serrana (MORETTO, 2014). Os acessos advindos do manejo *on farm* feito pelos agricultores ao longo dos anos proporcionaram material com grande diversidade genética para montagem do Banco Ativo de Germoplasma (BAG), localizado na EPAGRI da cidade de São Joaquim, Santa Catarina. Com aproximadamente 300 acessos de *Feijoa sellowiana*, o BAG da EPAGRI de São Joaquim possui grande potencial para desenvolvimento de novas variedades (MORETTO, 2014).

Recentemente, por meio de uma parceria junto ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal de Santa Catarina (PPGRGV/UFSC), a EPAGRI desenvolveu entre os anos de 2007 e 2008 quatro cultivares brasileiras: Alcântara (SCS411), Helena (SCS412), Mattos (SCS414) e Nonante (SCS415) (DUCROQUET *et al.*, 2007; DUCROQUET *et al.*, 2008).

A cultivar Helena (SCS412), objeto de estudo deste trabalho, consiste em um genótipo-elite derivado do cruzamento entre o acesso 101 com a cultivar neozelandesa auto-fértil *Unique*. A Helena representa uma cultivar com alto grau de produção e porte baixo. Ainda, se destaca pela precocidade de produção, a partir dos dois anos de vida, além do seu período de floração extenso, que aumenta as chances de polinização e surgimento de mais frutos (CIOTTA *et al.*, 2020; DUCROQUET *et al.*, 2007).

2.4 PRODUÇÃO DE MUDAS

A Feijoa apresenta sementes ortodoxas que podem ser armazenadas a longo prazo e que são facilmente propagadas, não apresentando necessidade de tratamentos para quebra de dormência em sua germinação (DUCROQUET *et al.*, 2000). Apesar disso, sua reprodução conta com mecanismos de autoincompatibilidade tardia e que favorecem a alogamia, e a produção de mudas a partir de sementes não é interessante para uma produção homogênea nos pomares. Assim, através da propagação vegetativa e suas diferentes técnicas, como estaquia, enxertia, alporquia, mergulhia e micropropagação há a possibilidade de obtenção de indivíduos idênticos à planta matriz. Desta forma, a propagação vegetativa confere determinadas vantagens em comparação à propagação sexuada, pois diminui o tempo de produção e conserva as qualidades da planta-mãe, proporcionando maior produtividade e uniformidade na produção (FACHINELLO *et al.*, 2005).

2.4.1 Multiplicação vegetativa convencional

Alguns trabalhos buscaram testar os métodos convencionais de propagação vegetativa para *Feijoa sellowiana* a partir de técnicas como estaquia e enxertia (DUARTE *et al.*, 1992; FRANZON *et al.*, 2004; MENDOZA, 2008; SILVA, 2022; SOUZA, 2014). No entanto, assim como em outras mirtáceas, a *Feijoa* apresenta dificuldades em sua propagação vegetativa tradicional (DUARTE *et al.*, 1992). Este entrave é muitas vezes explicado pela presença de compostos fenólicos, liberados na região do corte, que oxidam o tecido, impedindo a rizogênese e consequente sobrevivência do clone (FACHINELLO *et al.*, 2005).

Apesar do uso de diferentes metodologias, observou-se taxas variáveis de sobrevivência e enraizamento nos estudos envolvendo propagação vegetativa de *Feijoa sellowiana*, que em geral foram consideradas baixas (COUTINHO *et al.*, 1992; DUARTE *et al.*, 1992; FRANZON *et al.*, 2004; MENDOZA, 2008; SILVA, 2022). Nestes experimentos foram apontados diversos fatores que influenciam no sucesso de propagação da espécie, tais como a resposta genótipo-dependente, a época do ano em que as estacas são retiradas, bem como o estado fisiológico, posicionamento, idade e tamanho do explante.

Dentre os estudos realizados com a técnica de estaquia, DUARTE *et al.* (1992), utilizando estacas semilenhosas submetidas à imersão rápida em solução de ácido indolbutírico (AIB) na concentração 5.000 ppm e mantidas em ambiente sob nebulização contínua, alcançaram cerca de 31 % de enraizamento. Outros experimentos utilizando a mesma metodologia de estaquia em imersão rápida, como em COUTINHO *et al.* (1992), FRANZON *et al.* (2004), MENDOZA (2008) e SILVA (2022), buscaram avaliar a influência do tipo e tamanho de estaca, do posicionamento de retirada da estaca, do uso de antioxidantes e fitorreguladores no enraizamento, no entanto, apresentaram em geral taxas de enraizamento abaixo de 10%.

Para a técnica de enxertia, SOUZA (2014), utilizando enxertos não-lignificados, em plena atividade metabólica (primavera), observou bom índice médio de pegamento (92%). Apesar deste autor ter obtido uma alta eficiência cabe ressaltar que existem desvantagens com o emprego desta técnica, sendo a fragilidade da muda e a transmissão de pragas e doenças os problemas mais comuns (FACHINELLO *et al.*,

2005). Portanto, utilizando esta metodologia há a possibilidade de propagação da antracnose, principal patologia atrelada às culturas de *Feijoa sellowiana* (ARAÚJO & PINTO, 2018).

Neste sentido, diante das limitações para produção de mudas de qualidade em larga escala apresentadas pelos métodos convencionais de propagação, técnicas da biotecnologia vegetal como a micropropagação apresentam-se como uma alternativa potencial para produção massal de mudas com qualidade fitossanitária de genótipos de interesse.

2.4.2 Micropropagação

O cultivo *in vitro* de plantas pode ser sintetizado como um conjunto de técnicas que visa o crescimento de órgãos, tecidos ou células vegetais em condições controladas e assépticas. Assim como toda multiplicação vegetativa, este tipo de cultivo é baseado no princípio da totipotencialidade das células vegetais, postulado pelo botânico alemão Gottlieb Haberlandt em 1902 (BHOITE & PALSHIKAR, 2014). A totipotencialidade da célula vegetal é a capacidade em que determinadas células possuem de originar um indivíduo inteiro a partir de estímulos específicos que desencadeiam modificações da expressão gênica e permitem sua rediferenciação (SUGIMOTO ET AL., 2011). Nesse sentido, a partir da inoculação de um explante responsivo, desinfestado, em um meio de cultura com recursos específicos, as células deste explante sofrerão diversas cascatas de sinalização que irão ativar ou desativar a expressão de determinados genes, provocando os eventos de diferenciação ou rediferenciação celular e resultando no surgimento de novos indivíduos, órgãos, tecidos ou células (BHOITE & PALSHIKAR, 2014).

A micropropagação possibilita a propagação clonal de plantas em espaço reduzido, de forma rápida, asséptica, uniforme e em larga escala (GEORGE *et al.*, 2008). Dentre os fatores que influenciam a micropropagação podemos citar fatores físicos, tais como a temperatura, fotoperíodo, tipo de luz, umidade, presença de troca gasosa; biológicos, como genótipo, tipo e tamanho do explante, época de retirada, estado sanitário e idade fisiológica da planta mãe; e químicos, como pH do meio,

nutrientes utilizados, tipo de fonte suplementar de carbono, uso de vitaminas, fitorreguladores, agentes osmóticos e gelificantes (GEORGE *et al.*, 2008; GUPTA *et al.*, 2020). Uma das principais vantagens da cultura de tecidos é a possibilidade de controle destes fatores, tornando possível a manipulação da morfogênese das plantas. Existem diferentes maneiras de gerar estímulos que desencadearão o desenvolvimento das rotas morfogênicas, sendo a mais tradicional relacionada com a adição de fitorreguladores, como citocininas e auxínicas em balanços específicos no meio de cultura (GUPTA *et al.*, 2020).

São descritas duas rotas morfogenéticas associadas à micropropagação, a organogênese e a embriogênese somática. Em ambas rotas há a possibilidade de um desenvolvimento direto ou indireto, neste caso, marcado pela formação de um estágio intermediário com proliferação desordenada de células que formam um agregado disforme também chamado de calo. A embriogênese somática é um processo de desenvolvimento bipolar, no qual embriões se originam a partir de células somáticas diferenciadas, enquanto a organogênese é um processo de desenvolvimento monopolar, onde brotos ou raízes são formados a partir de gemas existentes ou neoformadas (GEORGE *et al.*, 2008).

A organogênese direta é considerada ideal para a multiplicação de clones de um genótipo-elite (SCHWARZ & BEATY, 2018). Segundo Singh (2015), este processo é dividido em quatro etapas: geração de culturas assépticas, que envolve a seleção do explante e seu estabelecimento *in vitro*, seguido das etapas de multiplicação, alongamento e enraizamento dos brotos. Frequentemente, em algumas destas etapas, o meio de cultura será suplementado com hormônios vegetais. Skoog (1957) em seu experimento utilizando balanços de auxínicas e citocininas observou que haviam padrões de desenvolvimento conforme determinadas combinações de fitorreguladores eram utilizadas. Nas formulações de meio de cultura onde a Kinetina (KIN) predominava, o autor observou grande proliferação de brotos, enquanto nas formulações onde o Ácido Indolacético (AIA) predominava foi observada grande proliferação de raízes (SKOOG, 1957).

Desta forma, entende-se que a organogênese é resultado da interação entre os hormônios vegetais endógenos do explante e os fitorreguladores adicionados ao meio de cultura. Para a etapa de multiplicação de brotos, as citocininas são mais

requeridas, pois esta classe de hormônio vegetal está associada a promoção da divisão celular, síntese proteica, maturação dos cloroplastos e desenvolvimento da parte aérea (TAIZ & ZEIGER, 2009).

2.4.2.1 Citocininas

Citocininas são hormônios vegetais que foram inicialmente atreladas a substâncias indutoras da multiplicação celular (TAIZ & ZEIGER, 2009). A primeira citocinina natural foi extraída de grãos de milho, e foi nomeada posteriormente de trans-Zeatina (JAMESON, 2017). As citocininas são moléculas derivadas da adenina que possuem uma cadeia lateral conjugada na posição N⁶ (SKOOG *et al.*, 1965). Esta cadeia lateral pode ser um composto isoprenóide ou aromático e, por conta disso, as citocininas naturais são divididas em duas classes: isoprenóides, como a 2-Isopenteniladenina (2iP), cis-Zeatina e trans-Zeatina, e aromáticas, como o BAP e as topolinas (KAMADA-NOBUSADA & SAKAKIBARA, 2009). O metabolismo deste hormônio pelas plantas está associado a conjugação das citocininas com glicosídeos, conversão em diferentes moléculas e degradação através de um grupo de enzimas denominadas citocinina desidrogenases (ZÜRCHER & MÜLLER, 2016). A conversão em diferentes moléculas ou a glicosilação podem servir tanto para modular a especificidade da interação citocinina-receptor quanto para tornar a molécula de citocinina reversivelmente ou irreversivelmente inativada (ZALABÁK *et al.*, 2013).

Dentre as citocininas aromáticas de natureza sintética mais utilizadas na cultura de tecidos pode-se citar o BAP, pelo seu baixo custo e bom desempenho em grande número de espécies (BAIRU *et al.*, 2007). No entanto, em alguns casos o uso do BAP apresenta problemas, pois resulta na produção de plantas com características hiperhídricas, amareladas, sem alongamento dos entrenós e que possuem dificuldade para enraizar e serem aclimatizadas (KUCHARSKA *et al.*, 2020). Estes problemas estão atrelados à via de metabolização desta substância, pois o BAP é convertido em conjugados irreversivelmente inativos que se acumulam e podem desencadear problemas em fases posteriores da multiplicação, como na etapa de enraizamento; ou até mesmo apresentar toxidez na multiplicação devido seu acúmulo após sucessivas repicagens (WERBROUCK *et al.*, 1996). Nesse sentido, alguns estudos com mirtáceas obtiveram sucesso na substituição da citocinina aromática BAP para a citocinina isoprenóide zeatina (CASTILLO *et al.*, 2015; HUNG *et al.*, 2016; SHATNAWI *et al.*, 2004). Outrossim, apesar dos resultados positivos, o alto custo da Zeatina

configura-se como um dos principais fatores limitantes para produção em larga escala (BAIRU et al., 2007).

Diante disso, as topolinas apresentam-se como um grupo de citocininas utilizadas como alternativa ao uso do BAP e Zeatina (CASTILLO et al., 2015). As topolinas são citocininas aromáticas descobertas primeiramente nas folhas de *Populus x canadensis* Moench., cv. Robusta (HORGAN et al., 1975). Por possuírem algumas diferenças estruturais em relação ao BAP, como a presença de um grupo hidroxila a mais ligado a um carbono de sua cadeia aromática, estas moléculas são convertidas através de reações de O-glicosilações no interior da planta (BAIRU et al., 2011; DOLEZAL & BRYKSOVA, 2021; GANTAIT & MITRA, 2021). Esse tipo de reação permite que a molécula permaneça ainda biologicamente ativa, modificando-a de maneira reversível, dado que esta glicosilação pode ser desfeita por enzimas da família das β -galactosidases (SAKAKIBARA, 2006). Portanto, por apresentar esse tipo de metabolização, as topolinas em geral podem apresentar determinadas vantagens para a micropropagação (DOLEZAL & BRYKSOVA, 2021; GANTAIT & MITRA, 2021; WERBROUCK et al., 1996).

A meta-topolina (mT) é uma citocinina da família das topolinas, que possui uma hidroxila na posição meta do seu anel aromático (GANTAIT & MITRA, 2021). Esta substância vem sendo utilizada com sucesso na multiplicação de brotos de diversas espécies (BAIRU et al., 2007; GENTILE et al., 2017; KUCHARSKA et al., 2020; WOJTANIA, 2010). Além disso, o uso de mT em substituição ao BAP e Zeatina a merece atenção, principalmente por facilitar em alguns casos nas fases posteriores da propagação *in vitro*, como no enraizamento, aclimatização e produção de mudas homogêneas (VALERO-ARACAMA et al., 2010; WERBROUCK et al., 1996).

3 METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal, localizado no Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina (LFDGV/FIT/UFSC).

3.1 OBTENÇÃO E ARMAZENAMENTO DAS SEMENTES

As sementes de *Feijoa sellowiana* da variedade Helena foram cedidas pela EPAGRI de São Joaquim/SC e armazenadas em geladeira (0° a 8° C).

3.2 DESINFESTAÇÃO DO MATERIAL

Na etapa de desinfestação as sementes foram imersas em álcool 70° por três minutos, seguido de imersão com agitação por quinze minutos em solução composta por hipoclorito de sódio (2,5 %) e uma gota de Tween80®. O uso deste surfactante diminui a tensão superficial entre a solução e o material, aumentando a eficiência na assepsia. Após este processo, foi realizada uma lavagem tripla com água deionizada autoclavada para retirada dos resíduos das soluções de assepsia.

3.3 GERMINAÇÃO DAS SEMENTES E SELEÇÃO DOS EXPLANTES

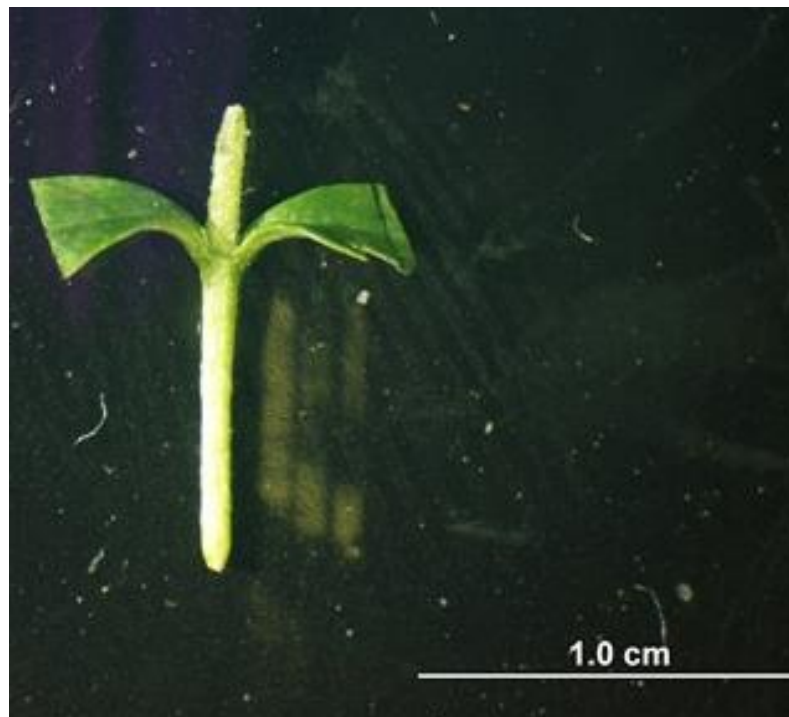
O meio de cultura utilizado para germinação foi o Woody Plant Medium - WPM (LLOYD & McCOWN, 1980) suplementado com sacarose (30 g.L⁻¹) e Phytigel® (2 g.L⁻¹). O pH foi ajustado para 5,8 e os frascos contendo o meio de cultura foram autoclavados por 15 minutos a 121° C, sob pressão de 1 atm.

O meio WPM foi escolhido pois demonstrou bons resultados em experimentos prévios de micropropagação da *Feijoa sellowiana* (OLTRAMARI *et al.*, 2000). As sementes foram inoculadas em frascos de vidro contendo 25 mL do meio descrito. A quantidade necessária de explantes para este experimento foi atingida após 13 semanas de cultivo em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 h, temperatura de 25° C ± 2° C.

3.4 CURVA DE CONCENTRAÇÃO DE META-TOPOLINA

Neste experimento avaliou-se influência de doses crescentes da citocinina meta-Topolina (mT) em microestacas de *Feijoa sellowiana* na etapa de multiplicação *in vitro* via organogênese. Os explantes foram segmentos nodais ($1,0 \pm 0,4$ cm) contendo um nó caulinar (Figura 2 - A), inoculados em tubos de ensaio com 10 mL de meio de cultura. Foram estabelecidos seis tratamentos, sendo quatro compostos por mT (nas concentrações de 1 μ M; 2 μ M; 4 μ M e 8 μ M), além do controle, isento de fitorreguladores, e outro tratamento com Benzilamino-purina (BAP), na concentração de 2 μ M, configurando um controle para variável tipo de citocinina. Esta concentração de BAP foi escolhida para comparar o efeito entre duas citocininas pois apresentou os melhores resultados para a multiplicação da variedade Helena em experimento prévio (GIRARDELLO & GUERRA, 2022).

Figura 2 – Segmento nodal utilizado como explante para o experimento de multiplicação *in vitro* com *Feijoa sellowiana* (Berg).



O cultivo foi realizado em sala de crescimento sob as mesmas condições de temperatura e iluminação anteriormente mencionadas na seção 3.3. Duas avaliações foram realizadas, uma aos 45 dias e outra aos 90 dias, no intuito de acompanhar o desenvolvimento morfológico, ocorrendo a coleta final dos dados após doze semanas de cultivo. Ao final do experimento foram coletados dados referentes à resposta morfogênica, ocorrência de calogênese e rizogênese, contagem do número de brotos, altura dos brotos e do número total de segmentos nodais.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quarenta repetições por tratamento. O teste de Shapiro- Wilk foi utilizado para observar a normalidade dos dados. Após isso, realizou-se o teste de Kruskal-Wallis para determinar se havia diferença estatística nos tratamentos. A análise post hoc foi conduzida utilizando o teste Dunn com correção de Bonferroni, a 95% de confiança, para averiguar quais médias foram significativamente distintas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa RStudio versão 4.1.2.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EFEITO DO BAP E META-TOPOLINA NAS RESPOSTAS MORFOGÊNICAS *IN VITRO*

Após noventa dias de cultivo *in vitro* observou-se que a suplementação das citocininas BAP e mT influenciaram na obtenção de diferentes respostas, como a calogênese, enraizamento e oxidação nos explantes utilizados. Nesse sentido, assim como evidenciado pela Tabela 1, os tratamentos que apresentaram menores valores absolutos para a variável resposta morfogênica foram aqueles elaborados com as maiores doses de mT. Apesar deste fitorregulador estar relacionado com o aumento da multiplicação de brotos e do vigor dos explante em diferentes estudos (ELAYARAJA et al., 2019; MANOKARI et al., 2021), neste trabalho foi visto que conforme a concentração da mT aumentou também aumentaram as observações de desenvolvimento assíncrono das gemas, de anormalidades morfológicas da parte aérea e do amarelecimento de folhas em parte dos brotos gerados.

Tabela 1 – Respostas morfogênicas *in vitro* de *Feijoa sellowiana* (Berg) sob influência das citocininas BAP e mT após 90 dias de cultivo.

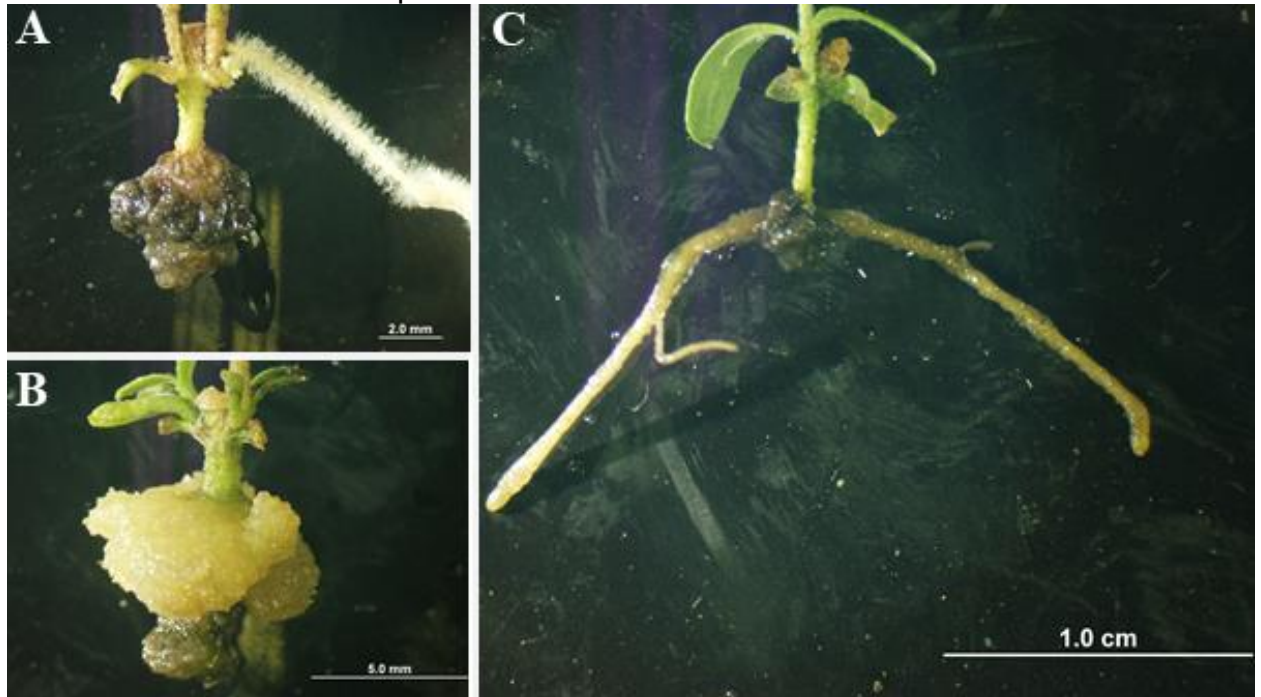
Tratamentos	Resposta morf. (%)	Calogênese (%)	Enraizamento (%)
Controle	91,6 ± 28 ^a	88,8 ± 31,8 ^a	75 ± 43,9 ^a
mT 1 µM	90 ± 30,3 ^a	87,5 ± 33,4 ^a	12,5 ± 33,5 ^b
mT 2 µM	90 ± 30,3 ^a	80 ± 40,5 ^{ab}	2,5 ± 15,8 ^b
mT 4 µM	65 ± 48,3 ^a	47,5 ± 50,6 ^b	0 ^b
mT 8 µM	82,5 ± 38,4 ^a	47,5 ± 50,6 ^b	0 ^b
BAP 2 µM	92,1 ± 27,3 ^a	42,1 ± 50 ^b	0 ^b

Valores (Média ± Desvio Padrão) seguidos pela mesma letra na coluna não diferem significativamente, de acordo com o Teste de Dunn com correção de Bonferroni ($p < 0.05$; $n = 40$).

Com relação ao processo de calogênese, todos os tratamentos apresentaram a formação de agregados celulares disformes na base do explante, com menor frequência nos tratamentos contendo BAP a 2 µM ou mT nas doses 4 e 8 µM. Bhojwani

et al. (1985), foi o primeiro autor a relatar a ocorrência de calos em *Feijoa sellowiana* (Berg), neste caso organogênicos e de coloração esverdeada.

Figura 3 - Cultivo *in vitro* de segmentos nodais de *Feijoa sellowiana* (Berg) em resposta aos diferentes tratamentos.



A – Ocorrência de calos oxidados no tratamento isento de fitorreguladores; B – Calos compactos em aparente divisão celular, apresentada no tratamento contendo meta-topolina 2 µM; C – Rizogênese ocorrente no tratamento controle após 90 dias de cultivo.

Fonte: O autor.

Outras respostas morfogênicas, tais como o enraizamento dos segmentos nodais foram observadas com maior frequência no tratamento isento de fitorreguladores (Figura 3 – C). O enraizamento de microestacas de *F. sellowiana* em meio WPM já havia sido descrito por Bhojwani *et al.* (1985), Canhoto & Cruz (1996), Canhoto *et al.* (1998), Oltramari *et al.* (2000), Vanzini-Pino (2016) e Ross & Grasso (2010), portanto a ocorrência de rizogênese *in vitro* já era esperada. Além disso, existe uma regulação negativa que a presença das citocininas exercem na formação das raízes laterais, evidenciadas por Werner *et al.* (2003) através do cultivo de *Arabidopsis sp.* mutantes. Ainda, Amghar *et al.* (2021) descreveram que a redução da taxa de nitrato de amônia auxiliou na indução de raízes em *Argania spinosa* (L.) Skeels. Logo,

ao utilizar um meio que contém baixos índices daquele nutriente, como é o caso do meio WPM, pôde-se observar a formação natural de raízes.

Apesar da baixa porcentagem e alto desvio padrão, evidencia-se (Tabela 1) que os tratamentos contendo mT nas concentrações 1 μM e 2 μM não inibiram a rizogênese em algumas repetições, diferentemente do BAP e da própria mT nas concentrações mais altas, de 4 μM e 8 μM . Esta nota sobre o efeito negativo do BAP no cultivo *in vitro* de diferentes espécies já havia sido realizada, como por exemplo em Gurel & Wren (1995), que observaram a redução da indução e do desenvolvimento de raízes em *Beta vulgaris* L. ao utilizar aquele fitorregulador. Logo, por aparentemente não inibir a rizogênese (BAIRU *et al.*, 2011), o uso de mT em concentrações baixas na multiplicação de *Feijoa sellowiana* pode configurar benefícios para as fases posteriores dos protocolos de propagação, como uma determinada facilidade para o processo de enraizamento. Embora a rizogênese não seja o objetivo desta etapa, é possível inferir a partir dos dados que o uso do meio WPM isento de fitorreguladores para a variedade Helena obteve uma taxa média de enraizamento satisfatória, de cerca de 75%, semelhante às encontradas por diferentes autores em outros genótipos de Feijoa (CANHOTO *et al.*, 1998; OLTRAMARI *et al.*, 2000; ROSS *et al.*, 2010; VANZINI-PINO, 2016). No entanto, a juvenilidade dos explantes utilizados no presente trabalho também deve ser considerada, pois a idade fisiológica do material mostrou ser um fator de grande influência no desenvolvimento e na sobrevivência *in vitro* da espécie (BHOJWANI *et al.*, 1985).

4.2 EFEITO DO BAP E META-TOPOLINA NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO*

Em relação aos parâmetros produtivos avaliados (Tabela 2), observou-se diferença significativa para variável número de brotos e número de nós gerados entre o tratamento isento de fitorregulador e o tratamento contendo BAP. Ou seja, a suplementação com BAP promoveu um aumento significativo nas taxas de multiplicação de ambas as variáveis em detrimento ao não uso de nenhuma citocinina. Ainda a partir da Tabela 2, observa-se que a utilização de mT e BAP em concentrações equimolares, de 2 μM , não resultou em diferença significativa na quantidade de brotos e nós gerados. No entanto, foi por meio do uso de BAP que

foram obtidos os maiores valores absolutos para ambos os dados, com uma média de 2,5 brotos e 6,3 segmentos nodais por explante.

O menor número absoluto de brotações observado no tratamento controle é um resultado que pode ser atribuído a ausência de citocininas, fitohormônio atrelado à quebra da dominância apical (SACHS et al., 1967). Apesar disso, cabe ressaltar que os tratamentos compostos por mT em suas diferentes concentrações não diferiram significativamente do tratamento controle para a variável número de brotos, sendo ainda observado o desenvolvimento assíncrono das gemas e brotações conforme crescia a concentração de mT suplementada. Portanto, em comparação ao BAP, o uso daquele fitorregulador não foi eficiente para quebra da dominância apical. Diante da metabolização da mT ser mediada principalmente por reações de O-glicosilações (DOLEZAL & BRYKSOVA, 2021), efeitos negativos deste fitorregulador na multiplicação são raros na literatura. No entanto, em *Prunus* sp., Gentile et al. (2014) observou que a mT não aumentou a proliferação de brotos em comparação ao BAP. O mesmo resultado para mT também foi evidenciado por Castillo et al. (2015) em genótipos uruguaios selecionados de *Feijoa sellowiana*, onde o uso de desta citocinina nas concentrações específicas de 2,2 μ M e 4,4 μ M não foram eficientes para a multiplicação dos segmentos nodais introduzidos.

Tabela 2 – Parâmetros produtivos do cultivo *in vitro* de segmentos nodais de *Feijoa sellowiana* (Berg) após 90 dias de cultivo.

Dose	Número de brotos	Número de nós	Altura (mm)
Controle	1,8 \pm 0,3 ^a	3,6 \pm 1,9 ^{ab}	12,1 \pm 8,1 ^{ac}
mT 1 μ M	1,9 \pm 0,4 ^a	5,2 \pm 2,5 ^{ac}	18,7 \pm 11,6 ^a
mT 2 μ M	1,9 \pm 0,5 ^{ab}	4,8 \pm 2 ^{ac}	18,7 \pm 9 ^a
mT 4 μ M	2,0 \pm 0,4 ^a	3 \pm 2,6 ^b	3,4 \pm 4,5 ^b
mT 8 μ M	1,9 \pm 0,2 ^a	3,5 \pm 2,3 ^{ab}	5,4 \pm 5,4 ^{bc}
BAP 2 μ M	2,5 \pm 1,2 ^b	6,3 \pm 2,9 ^c	8,7 \pm 6,1 ^c

Valores (Média \pm Desvio Padrão) seguidos pela mesma letra na coluna não diferem significativamente, de acordo com Kruskal Wallis seguido de Teste de Dunn com correção de Bonferroni ($p < 0.05$; $n = 40$).

Tendo em vista as particularidades para propagação vegetativa de *Feijoa sellowiana* (Berg), a técnica de micropropagação via organogênese é estudada desde

1985 e, por conta disso, diversas composições de meio de cultura, tipos e concentrações de citocininas foram testadas para a micropropagação da espécie (BHOJWANI *et al.*, 1985; CANHOTO *et al.*, 1998; MITROFANOVA *et al.*, 2004; OLTRAMARI *et al.*, 2000; PEREIRA *et al.*, 2020; ROSS & GRASSO, 2010; VANZINI-PINO, 2016).

Dentre as citocininas utilizadas na micropropagação de segmentos nodais de Feijoa, Oltramari *et al.* (2000), utilizando Kinetina na concentração de 5 µM obtiveram uma taxa de multiplicação de 3 nós por planta após 30 dias de cultivo. Além disso, também observaram que a adição de citocininas ao meio de cultura basal WPM não aumentou o número de brotos ou de nós em relação ao tratamento controle. Isto demonstrou que o uso da Kinetina, assim como o de mT no presente trabalho, não obteve taxas satisfatória de multiplicação nos genótipos estudados (OLTRAMARI *et al.*, 2000).

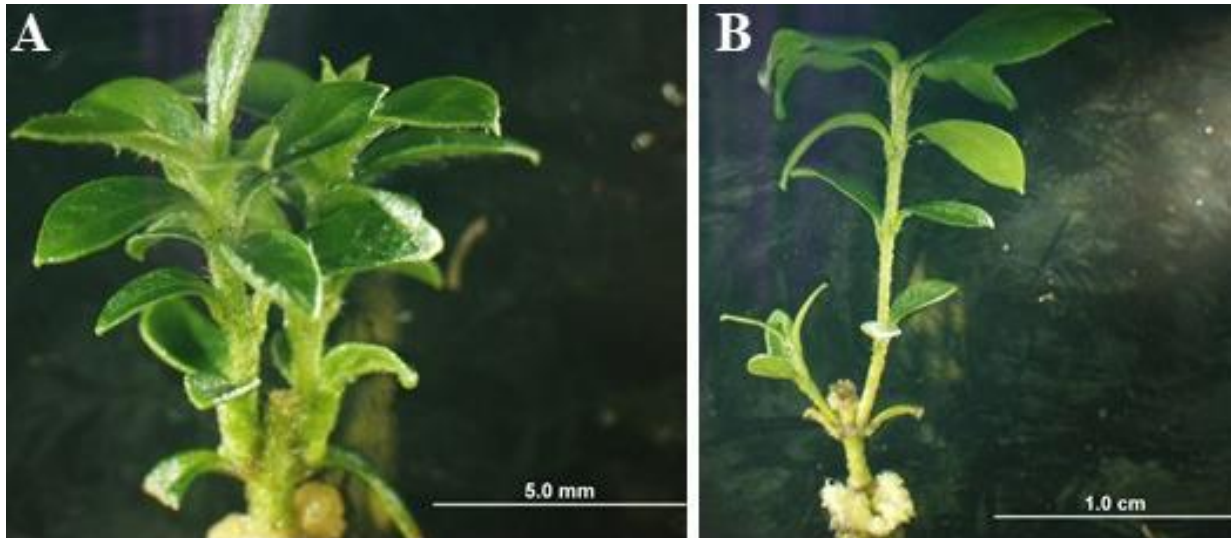
A resposta genótipo dependente para micropropagação via organogênese deve ser ressaltada, pois Vanzini-Pino (2016) observou grandes diferença nas taxas de multiplicação para o mesmo tratamento entre dois genótipos uruguaios. Logo presume-se a importância da realização destes testes entre as variedades brasileiras e genótipos-elite desenvolvidos pela parceria entre EPAGRI e UFSC. Ainda, a coleta dos explantes para o presente trabalho foi feita a partir da germinação de sementes. Por conta da Feijoa apresentar mecanismos que favorecem a alogamia (DUCROQUET, 2000; SANTOS *et al.*, 2007; STWEART, 1987), e nesse sentido, por não haver certeza sobre o genótipo parental das sementes obtidas, presume-se que a grande variação nos desvios padrões de alguns dados sejam decorrentes de respostas genótipo-dependentes.

Os primeiros autores a analisarem a influência do TDZ para multiplicação *in vitro* de variedades brasileiras foram Pereira *et al* (2020). A variedade utilizada neste estudo foi a Alcântara e observou-se que o TDZ, uma citocinina sintética derivada da feniluréia (PETRI *et al.*, 2001), gerou grande quantidade de calos e influenciou negativamente na multiplicação de segmentos nodais para aquela variedade.

Com relação as outras citocininas, a influência do BAP em microestacas de Feijoa foi testada por Canhoto *et al.* (1998), onde dentre as doses utilizadas a de 0,7 µM foi a mais eficiente, com uma taxa de multiplicação de 3 brotos gerados por segmento nodal. Ainda, segundo Canhoto *et al.* (1998), a partir da suplementação de BAP obtiveram-se respostas características como altura reduzida, entrenós curtos e

um aspecto de muda micropropagada, assim como aquelas observadas pelo presente trabalho (Figura 4 – A).

Figura 4 - Morfologia dos brotos de *Feijoa sellowiana* (Berg) cultivados *in vitro* em resposta às citocininas BAP e mT.



A – Brotos gerados com BAP 2 μM apresentando entrenós curtos e em grandes quantidades, de onde desenvolvem-se mais brotos.; B – Brotos gerados com mT 2 μM apresentando desenvolvimento desigual das gemas e um broto com maior espaçamento dos entrenós e tamanho de folha.

Fonte: O autor.

Em contrapartida a estes resultados, Mitrafanova *et al.* (2004) compararam Zeatina com BAP em variedades uruguaias e avaliaram que a primeira citocinina promoveu maior número de brotações, com uma média de 3,7 brotos por segmento nodal na concentração de 9 μM . No entanto, estes mesmos autores constataram que ambos fitorreguladores causaram vitrificação de parte dos explantes em doses acima de 9 μM . Outros resultados que corroboram a conclusão de que a Zeatina foi a citocinina que melhor performou nos estudos realizados para a etapa de multiplicação de segmentos nodais de variedades uruguaias de *Feijoa sellowiana* (Berg) foram observados por Castillo *et al.* (2015), que analisaram o uso de Zeatina e da meta-Topolina nas concentrações de 2,85 μM e 4,27 μM ; 2,12 μM e 4,14 μM , respectivamente.

Em Castillo *et al.* (2015), os autores ainda reportaram que, em comparação à Zeatina, a meta-Topolina não foi efetiva em aumentar o número de gemas, mas obteve respostas características, como uma não inibição da indução do enraizamento e

aumento da altura dos brotos gerados. Estas observações que associam a meta-Topolina com o desenvolvimento em altura dos brotos também foram observados por Manokarki *et al.* (2021) para *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. Ao compararmos visualmente as plantas obtidas no presente experimento juntamente com os dados de altura, observamos diferenças significativas para os tratamentos que continham meta-topolina nas concentrações de 1 μM e 2 μM , nos quais estes apresentaram os brotos com maiores alturas. Nesse sentido, assim como em Castillo *et al.* (2015) e Manokarki *et al.* (2021), a partir dos resultados obtidos também foi constatado que concentrações específicas de mT induziram o crescimento em altura dos brotos gerados e consequentemente o alargamento do espaço dos entrenós para a variedade Helena.

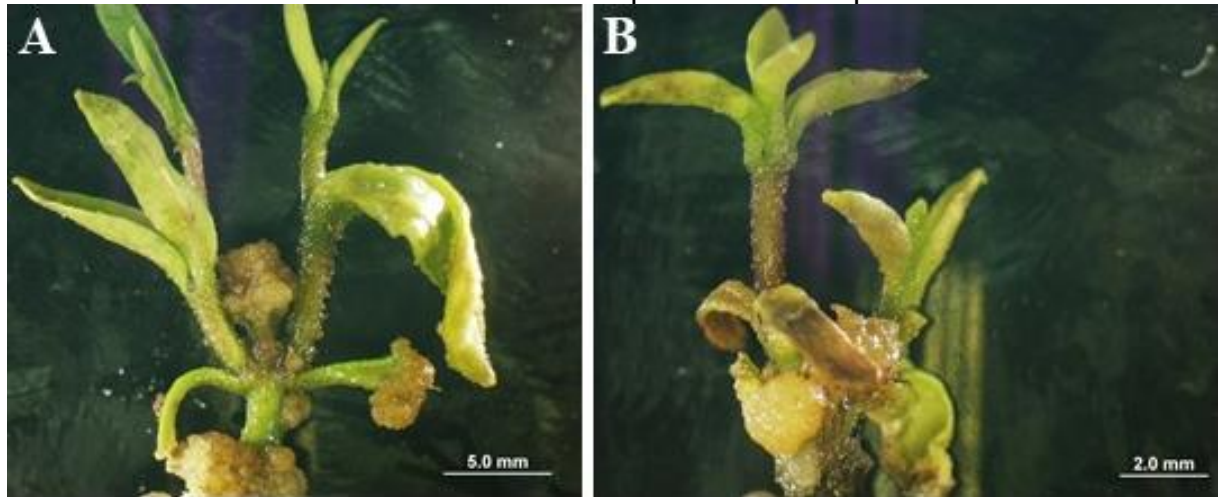
Um dos fatores importantes para a cultura de tecidos que pode ser considerado neste caso como um aliado ao uso da meta topolina nas culturas de *Feijoa sellowiana* é o aumento do tamanho da muda e a aparente não inibição da rizogênese em doses menores a 2 μM (Figura 4-B). Este interesse possui caráter prático, uma vez que mudas pequenas tendem a tornar-se mais difíceis para manuseio, além de aumentar o tempo para sua multiplicação e sua sobrevivência ficar comprometida por conta disso (DE CARVALHO *et al.*, 2004; RODRIGUES *et al.*, 2014).

Apesar deste aparente benefício, foi observado que ao elevar as doses de mT para 4 μM e 8 μM houve uma maior frequência de efeitos negativos no crescimento e desenvolvimento dos brotos da variedade, com aparente senescência. Dentre os fatores que podem ser atribuídos a esse tipo de situação pode-se citar o uso de fitorreguladores em doses altas, mais especificamente citocininas, e ao acúmulo de etileno devido à ausência de troca gasosa (GAN & AMASINO, 1997). Ainda, estas anormalidades morfológicas e efeitos negativos dependerão do genótipo, do tipo de citocinina utilizada bem como de sua concentração (PAI & DESAI, 2018).

Tendo em vista que as plantas deste trabalho passaram 90 dias sem repicagem, a ausência de trocas gasosas no cultivo *in vitro* pode ter sido determinante para o acúmulo de etileno e o aceleração do processo de senescência de parte dos brotos nas concentrações mais altas de mT. Nesse sentido, a partir da Figura 5, evidenciam-se anormalidades no crescimento da parte aérea das plantas nos tratamentos contendo mT 4 μM e 8 μM . Os brotos destes tratamentos tinham

frequentemente folhas amarelcidas, que aparentemente perderam sua eficiência fotossintética por apresentar uma morfologia diferente da usual, mais finas e pontiagudas ou deformadas/retorcidas. Diante disso, não é recomendado o uso da mT nestas doses para a etapa de multiplicação da variedade Helena.

Figura 5 - Desenvolvimento anormal dos brotos de *Feijoa sellowiana* (Berg) cultivados *in vitro* em resposta à meta-topolina.

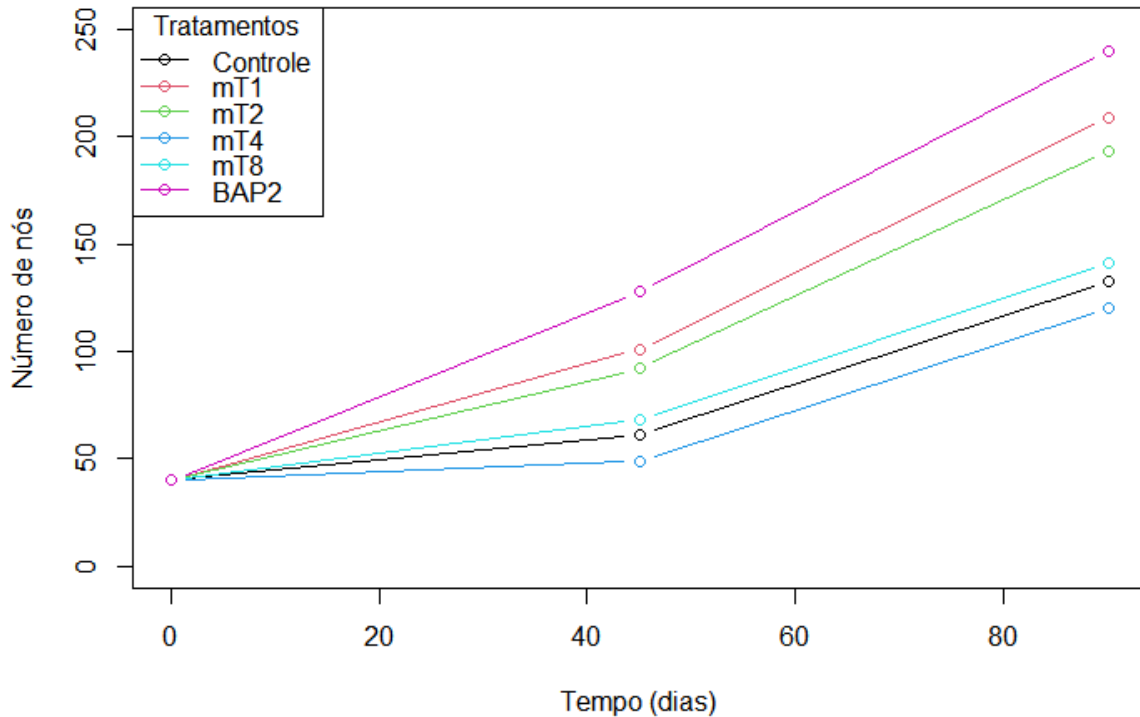


A – Anormalidades na parte aérea a partir da suplementação com mT 4 μ M; B – Amarelecimento das folhas e desenvolvimento assíncrono das brotações em mT 8 μ M.

Fonte: O autor.

Por fim, observa-se (Figura 6) que todos os tratamentos seguiram o mesmo comportamento, de crescimento da taxa de multiplicação ao longo dos 90 dias de cultivo. Ao analisar o número de segmentos nodais ao longo do tempo, observou-se que ao fim de noventa dias o valor inicial de segmentos nodais foi sextuplicado com o uso do BAP.

Figura 6 - Número de segmentos nodais gerados nos diferentes tratamentos ao longo de noventa dias de cultivo *in vitro* da variedade Helena (SCS412).



Ou seja, seguindo o protocolo do presente estudo, estima-se que seja possível gerar ao longo de um ano cerca de 1.300 brotos transplantáveis a partir de um segmento nodal da variedade Helena. Estes valores ainda são considerados baixos, portanto, novos estudos buscando interfaces entre citocininas e outros fitorreguladores, além de novos testes no restante das variedades brasileiras são necessários para viabilizar a produção de mudas da espécie via micropropagação.

5 CONCLUSÃO

O uso de BAP promoveu a maior taxa de multiplicação nas variáveis número de brotos e número de segmentos nodais para a *Feijoa sellowiana* var. Helena.

O uso de mT nas concentrações de 1 μM e 2 μM promoveu maiores valores para altura dos brotos e não diferiram significativamente do BAP nas taxas de multiplicação analisadas.

O meio de cultura WPM isento de fitorreguladores induz a formação de raízes em segmentos nodais jovens desta variedade.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, Naseem; STRNAD, Miroslav (Ed.). *Meta-topolin: A Growth Regulator for Plant Biotechnology and Agriculture*. **Springer Singapore**, 2021.
- AMARANTE, Cassandro Vidal Talamini do; SANTOS, Karine Louise dos. Goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, 2011.
- AMGHAR, Ilham et al. In vitro root induction from argan (*Argania spinosa* (L.) Skeels) adventitious shoots: Influence of ammonium nitrate, auxins, silver nitrate and putrescine, and evaluation of plantlet acclimatization. **Plants**, v. 10, n. 6, p. 1062, 2021.
- ARAÚJO, L.; PINTO, F. A. M. F. Principais doenças e seu controle. In *A Cultura da Goiabeira-Serrana*; Ciotta, MN; Arioli, CJ; Pinto, FAMF; Santos, K, p. 147-166, 2018.
- BAIRU, Michael W. et al. Optimizing the micropropagation protocol for the endangered *Aloe polyphylla*: can meta-topolin and its derivatives serve as replacement for benzyladenine and zeatin?. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 90, n. 1, p. 15-23, 2007.
- BAIRU, Michael W. et al. Changes in endogenous cytokinin profiles in micropropagated *Harpagophytum procumbens* in relation to shoot-tip necrosis and cytokinin treatments. **Plant Growth Regulation**, v. 63, n. 2, p. 105-114, 2011.
- BARNI, E. J. et al. **Potencial de mercado para a goiaba serrana catarinense**. Documento nº 212, Epagri, Florianópolis, 2004.
- BHOITE, Harshal A.; PALSHIKAR, Gautam S. Plant tissue culture: a review. *World journal of pharmaceutical sciences*, p. 565-572, 2014.
- BHOJWANI, Sant S.; MULLINS, K.; COHEN, D. Micropropagation of *Feijoa sellowiana* Berg. In: **Symposium on In Vitro Problems Related to Mass Propagation of Horticultural Plants 212**. 1985. p. 69-76.
- BRESSANELLI, Marcielly. **Miniestaquia de goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*)**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- CANGAHUALA-INOCENTE, Gabriela Claudia et al. Competência embriogenética em tecidos florais de *Acca sellowiana* (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S2, p. 87-89, 2007.
- CANHOTO, J. M.; CRUZ, G. S. *Feijoa sellowiana* Berg (pineapple guava). In: **Trees IV**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1996. p. 155-171.
- CANHOTO, J. M.; GRUZ, G. S. Micropropagation of Pineapple Guave Through organogenesis and axillary shoot proliferation. In: **XXV International Horticultural Congress, Part 10: Application of Biotechnology and Molecular Biology and Breeding-In Vitro 520**. 1998. p. 109-118.

CASTILLO, A.; CABRERA, D.; RODRIGUEZ, P.; ZOPPOLO, R. Avances en micropropagación de Guayabo del País. In: **INIA (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria), Programa Nacional Producción Frutícola. 7° Encuentro Nacional sobre Frutos Nativos. Colonia (UY): INIA, 2015.** 2015. p. 9-13. <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/10692/1/sad-745-p.9-13.pdf>

CIOTTA, Marlise Nara; DOS SANTOS, Karine Louise; DA SILVEIRA PASA, Mateus. Crescimento e atributos fenológicos dos cultivares de goiabeira-serrana em São Joaquim, SC. **Agropecuária Catarinense**, v. 33, n. 1, p. 28-31, 2020.

COUTINHO, E. F. et al. Efeito do ácido indolbutírico e antioxidante na formação de calos em estacas semilenhosas de goiabeira-serrana. **Revista Brasileira de Fruticultura, Cruz das Almas**, v. 14, n. 3, p. 141-143, 1992.

DE CARVALHO, ANA CRISTINA PORTUGAL PINTO; TOMBOLATO, ANTONIO FERNANDO C. Desempenho de mudas micropropagadas. **Ornamental Horticulture**, v. 10, n. 1/2, 2004.

DE SOUZA, Sadi Nazareno. Técnica de enxertia para a propagação da goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 12, n. 3, p. 314-316, 2014.

DOLEŽAL, Karel; BRYKSOVÁ, Magdalena. Topolin Metabolism and Its Implications for In Vitro Plant Micropropagation. **Meta-topolin: A Growth Regulator for Plant Biotechnology and Agriculture**, p. 49-58, 2021.

DUARTE, O. R.; FACHINELLO, J. C.; DOS SANTOS FILHO, B. G. Multiplicação da Goabiera Serrana Atraves de Estacas Semilenhosas. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v.27, n.3, p.513-516, mar. 1992.

DUCROQUET, J. P. H. J.; HICKEL, E. R. Birds as pollinators of Feijoa (*Acca sellowiana* Bera). In: **International Symposium on Myrtaceae**. p. 37-40. 1996.

DUCROQUET, J.P.H.J; HICKEL, E.R.; NORDARI, R.O. Goiabeira-serrana (*Feijoa sellowiana*), **Série Frutas Nativas**, 66p, Jaboticabal: Funep, 2000.

DUCROQUET, Jean-Pierre Henri J. et al. As primeiras cultivares brasileiras de goiabeira serrana: SCS 411 Alcântara e SCS 412 Helena. **Agropecuária Catarinense**, v. 20, n. 2, p. 77-80, 2007.

DUCROQUET, Jean-Pierre Henri J. et al. Novas cultivares brasileiras de goiabeira serrana: SCS 414-Mattos and SCS 415-Nonante. **Agropecuária Catarinense**, v. 21, n. 2, p. 77-80, 2008.

ELAYARAJA, Dhandapani et al. Meta-Topolin (mT) enhances the in vitro regeneration frequency of *Sesamum indicum* (L.). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 21, p. 101320, 2019.

FACHINELLO, José Carlos et al. Propagação de plantas frutíferas. Brasília: **Embrapa informação tecnológica**, 221p, 2005.

FRANZON, Rodrigo; RASEIRA, Maria; ANTUNES, Luiz. Efeito do AIB e de diferentes tipos de estaca na propagação vegetativa da goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* Berg). **Current Agricultural Science and Technology**, v. 10, n. 4, 2004.

GEORGE, Edwin F.; HALL, Michael A.; DE KLERK, Geert-Jan. Plant propagation by tissue culture. Volume I. The background. **Plant Propagation by Tissue Culture**, v. 1, p. 205-226, 2008.

GENTILE, A. et al. Effect of meta-Topolin on micropropagation and adventitious shoot regeneration in *Prunus* rootstocks. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 118, n. 3, p. 373-381, 2014.

GENTILE, A. et al. The aromatic cytokinin meta-topolin promotes in vitro propagation, shoot quality and micrografting in *Corylus colurna* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 128, n. 3, p. 693-703, 2017.

GIRARDELLO, G.; GUERRA, M. P. Ação de citocininas em segmentos nodais de *Acca sellowiana* var. Helena. In: **II Congresso Brasileiro de Biotecnologia, 2022**. Revista Multidisciplinar Educação e Meio ambiente, 2022. <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rema/issue/view/32>.

GIULIETTI, A.M. et al. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**, p52-61, 2005.

GÜREL, Ekrem; WREN, M. Jill. In vitro development from leaf explants of sugar beet (*Beta vulgaris* L). Rhizogenesis and the effect of sequential exposure to auxin and cytokinin. **Annals of Botany**, v. 75, n. 1, p. 31-38, 1995.

GANTAIT, Saikat; MITRA, Monisha. Role of meta-topolin on in vitro shoot regeneration: an insight. In: Meta-topolin: A Growth Regulator for Plant Biotechnology and Agriculture. **Springer, Singapore**, p. 143-168. 2021.

GUPTA, Nikita et al. A review on micropropagation culture method. **Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development**, v. 8, n. 1, p. 86-93, 2020.

HICKEL, E. R. et al. Insect pollination of feijoa, *Feijoa sellowiana* (Berg), In: **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, n. 1, p. 96-101, 2000.

HORGAN, R. et al. A new cytokinin from *Populus x robusta*. **Phytochemistry**, v. 14, n. 4, p. 1005-1008, 1975.

HUNG, Cao Dinh et al. LED light for in vitro and ex vitro efficient growth of economically important highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 6, p. 1-9, 2016.

JAMESON, P. Cytokinins. In: **Encyclopedia of applied plant sciences**, v. 1., p. 391–402, 2017.

KAMADA-NOBUSADA, Tomoe; SAKAKIBARA, Hitoshi. Molecular basis for cytokinin biosynthesis. **Phytochemistry**, v. 70, n. 4, p. 444-449, 2009.

KUCHARSKA, Danuta et al. Application of meta-Topolin for improving micropropagation of gooseberry (*Ribes grossularia*). **Scientia Horticulturae**, v. 272, 2020.

KELLER, Héctor A.; TRESSENS, Sara G. Presencia en Argentina de dos especies de uso múltiple: *Acca sellowiana* (Myrtaceae) y *Casearia lasiophylla* (Flacourtiaceae). **Darwiniana, nueva serie**, v. 45, n. 2, p. 204-212, 2007.

LLOYD, Gregory et al. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture.**, v. 30, p. 421-427, 1980.

LORENZI, Harri. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas: de consumo in natura**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

LUCAS, Eve J. et al. A new subtribal classification of tribe Myrteae (Myrtaceae). **Systematic Botany**, v. 44, n. 3, p. 560-569, 2019.

MANOKARI, M. et al. Meta-topolin and liquid medium mediated enhanced micropropagation via ex vitro rooting in *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 146, n. 1, p. 69-82, 2021.

MASSAWE, Festo; MAYES, Sean; CHENG, Acga. Crop diversity: an unexploited treasure trove for food security. **Trends in plant science**, v. 21, n. 5, p. 365-368, 2016.

MATTOS, João Rodrigues. **A goiabeira serrana**. Instituto de Pesquisas de Recursos Naturais Renováveis AP, 1986.

MENDOZA, María Julia Salvarrey. EVALUACIÓN DE DIFERENTES TÉCNICAS DE PROPAGACIÓN VEGETATIVA EN "GUAYABO DEL PAÍS" (*Acca sellowiana* (Berg.) Burret.). 2008. Tese de Doutorado. UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA.

MITRA, S. K. et al. Taxonomy and importance of Myrtaceae. In: **III International Symposium on Guava and other Myrtaceae**. p. 23-34. 2012.

MITROFANOVA, Irina V.; MITROFANOVA, Olga V. Development of recipient system of woody subtropical plants in vitro. **Acta Universitatis Latviensis. Biology**, v. 676, p. 189-196, 2004.

MORETTO, Samira Peruchi; NODARI, Eunice Sueli; NODARI, Rubens Onofre. A Introdução e os Usos da Feijoa ou Goiabeira Serrana (*Acca sellowiana*): A perspectiva da história ambiental. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 3, n. 2, p. 67-79, 2014a.

MORETTO, Samira Peruchi et al. A domesticação e a disseminação da feijoa (*Acca sellowiana*) do século XIX ao século XXI. 2014b.

OLTRAMARI, Ana Carla et al. Protocolo de micropropagação da goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). **Ciência Rural**, v. 30, p. 61-68, 2000.

PAI, Sandeep R.; DESAI, Neetin S. Effect of TDZ on various plant cultures. In: Thidiazuron: From urea derivative to plant growth regulator. **Springer**, Singapore, p. 439-454. 2018.

PAVAN, Aline M. et al. ESTAQUIA DE *Acca sellowiana* (MYRTACEAE). In: **Anais do 64º Congresso Nacional de Botânica**, 2013. v. Único.

PEREIRA, Fernanda; DAL VESCO, Lírio Luiz; JUNIOR, Paulo Cesar Poeta Fermino. Efeito do thidiazuron (TDZ) na propagação in vitro de goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* (O. Berg.) Burret). **Scientia Naturalis**, v. 2, n. 1, 2020

PINGALI, Prabhu L. Green revolution: impacts, limits, and the path ahead. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 31, p. 12302-12308, 2012.

R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Disponível em: <https://www.R-project.org>.

RODRIGUES, Paulo Hercílio Viegas; BORDIGNON, Stevan Ricardo; AMBROSANO, Glaucia Maria Bovi. Desempenho horticultural de plantas propagadas in vitro de *Sacha inchi*. **Ciência Rural**, v. 44, p. 1050-1053, 2014.

ROSS, Silvia; GRASSO, Rafael. In vitro propagation of 'Guayabo del país' (*Acca sellowiana* (Berg.) Burret). **Fruit Veg. Cereal Sci Biotech**, v. 4, n. special issue 1, p. 83-87, 2010.

SACHS, Tsvi; THIMANN, Kenneth V. The role of auxins and cytokinins in the release of buds from dominance. **American Journal of Botany**, v. 54, n. 1, p. 136-144, 1967.

SÁNCHEZ-MORA, Fernando David et al. Advances on self-(in) compatibility of accessions of feijoa [*Acca sellowiana* (O. Berg.) Burret]. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, p. 1-20, 2022.

SANTOS, Karine Louise dos et al. *Acca sellowiana*. In: **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, cap. 5, p. 111-129. 2011.

SANTOS, Karine Louise dos et al. Evidence of the late-acting self-incompatibility system in *Acca Sellowiana* (berg) burret.(Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, p. 120-123, 2007.

SCHWARZ, Otto J.; BEATY, Robert M. Organogenesis. In: **Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises**. Routledge, p. 125-138. 2018.

SHATNAWI, M. Awad; JOHNSON, Krystyna A.; TORPY, Fraser R. In vitro propagation and cryostorage of *Syzygium francissi* (Myrtaceae) by the encapsulation-dehydration method. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 40, n. 4, p. 403-407, 2004.

SINGH, Aneesha. Micropropagation of plants. In: **Plant biology and biotechnology**. Springer, New Delhi, p. 329-346. 2015.

SKOOG, Folke; STRONG, F. M.; MILLER, Carlos O. Cytokinins. **Science**, v. 148, n. 3669, p. 532-533, 1965.

SKOOG, Folke. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. In: **Symp. Soc. Exp. Biol.** p. 118-131. 1957.

STEWART, Anne Margaret. Reproductive biology and pollination ecology of *Feijoa sellowiana*. 1987. Tese de Doutorado. ResearchSpace@ Auckland.

SUGIMOTO, Kaoru; GORDON, Sean P.; MEYEROWITZ, Elliot M. Regeneration in plants and animals: dedifferentiation, transdifferentiation, or just differentiation? **Trends in cell biology**, v. 21, n. 4, p. 212-218, 2011.

THORP, Grant; BIELESKI, Roderick Leon. Feijoas: origins, cultivation and uses. **HortResearch**, 2002.

VALERO-ARACAMA, Carmen et al. Substitution of benzyladenine with meta-topolin during shoot multiplication increases acclimatization of difficult-and easy-to-acclimatize sea oats (*Uniola paniculata* L.) genotypes. **Plant Growth Regulation**, v. 60, n. 1, p. 43-49, 2010.

VANZINI PINO, María Inés. Desarrollo de un sistema de propagación in vitro em "Guayabo del país" (*Acca sellowiana* (Berg.) Burret.). 2016.

VASCONCELOS, Thais NC et al. Myrteae phylogeny, calibration, biogeography and diversification patterns: increased understanding in the most species rich tribe of Myrtaceae. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 109, p. 113-137, 2017.

VUOTTO, Maria Luisa et al. Antimicrobial and antioxidant activities of *Feijoa sellowiana* fruit. **International journal of antimicrobial agents**, v. 13, n. 3, p. 197-201, 2000.

WERBROUCK, Stefaan PO et al. Meta-topolin, an alternative to benzyladenine in tissue culture. **Physiologia plantarum**, v. 98, n. 2, p. 291-297, 1996.

WERNER, Tomáš et al. Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the

regulation of shoot and root meristem activity. **The Plant Cell**, v. 15, n. 11, p. 2532-2550, 2003.

WOJTANIA, Agnieszka. Effect of meta-topolin in vitro propagation of *Pelargonium x hortorum* and *Pelargonium x hederaefolium* cultivars. **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 79, n. 2, p. 101-106, 2010.

ZHU, Fan. Chemical and biological properties of feijoa (*Acca sellowiana*). **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, p. 121-131, 2018.

ZÜRCHER, E.; MÜLLER, B. Cytokinin synthesis, signaling, and function—advances and new insights. **International review of cell and molecular biology**, v. 324, p. 1-38, 2016.