

Modelos de regressão com platô na estimativa do tamanho de parcelas em experimento de conservação *in vitro* de maracujazeiro

Using of regression plateau models in estimation of plot sizes for experiments with passion fruit

Ana Patricia Bastos Peixoto^I Gláucia Amorim Faria^{II} Augusto Ramalho de Morais^{III}

RESUMO

A determinação do tamanho de parcela é uma prática pertinente ao planejamento experimental e sua caracterização otimizada, em conjunto com o controle do material experimental, permite a obtenção de resultados com maior precisão e qualidade. Neste trabalho, determinou-se o tamanho de parcelas para experimentos de conservação *in vitro* de maracujazeiro, em dez ensaios de uniformidade com a espécie *Passiflora Giberti* N. E. Brown, utilizando-se o modelo de regressão linear segmentado com platô e o modelo de regressão quadrática segmentado com platô, que utilizam a técnica de resposta com platô a modelos que possuam mínimo. Os ensaios de uniformidade foram oriundos de experimento conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com 20 unidades básicas (ub), e os tratamentos dispostos em esquema fatorial com três concentrações de sacarose, três concentrações de sorbitol e uma testemunha. A coleta dos dados foi realizada aos 60 dias após a incubação, medindo-se o comprimento das brotações. Os tamanhos de parcelas variaram com o método utilizado, encontrando-se parcelas formadas por seis explantes pelo modelo da regressão linear segmentado com platô e de dez explantes pelo modelo de regressão quadrática segmentado com platô.

Palavras-chave: *Passiflora Giberti* N. E. Brown, precisão experimental, coeficiente de variação, ensaio de uniformidade, regressão segmentada.

ABSTRACT

The determination of the plot size is a practical question to the experimental design, and its characterization in an optimized way allows obtaining larger precision and quality

results. This research aimed to determine the plot size in experiments *in vitro* that seek the passion fruit plant conservation in ten uniformity assays with the species *Passiflora Giberti* N. E. Brown. The tests of uniformity came from an experiment conducted in a completely randomized design with treatments in a factorial design with three concentrations of sucrose, three concentrations of sorbitol and a control. Each treatment was considered as a uniformity assay, with 20 basic units. The evaluations of the experiments were done in the 60 days of incubation, being measured the shoots' length. For the estimate of the optimal plot size it was used the models segmented with linear-plateau, and the quadratic-plateau. The plot size varied with the method used, with values from 6 basic units for the linear-plateau model segmented, and from 10 basic units, for quadratic-plateau model.

Key words: *Passiflora Giberti* N. E. Brown, experimental precision, variation coefficient, uniformity assay, segmented regression.

INTRODUÇÃO

A conservação *in vitro* por cultura de tecidos é uma técnica que vem sendo utilizada e aperfeiçoada na manutenção dos bancos ativos de germoplasma. Em trabalhos de conservação, geralmente se utiliza o maior número de repetições possível por tratamento, em razão da grande variabilidade do material biológico a ser testado e do tempo que esse material será testado sem subcultivo. Isso acarreta maior custo

^IDepartamento de Estatística, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), 58429-500, Campina Grande, PB, Brasil. E-mail: anapatricia@cct.uepb.edu.br. Autor para correspondência.

^{II}Programa de Pós-graduação em Estatística e Experimentação Agropecuária, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, Brasil.

^{III}Departamento de Ciências Exatas, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

do experimento, maior tempo para avaliação e gasto de material de consumo, podendo até limitar a execução de projetos pelo aumento de seu custo de financiamento pelas agências de fomento.

Assim, o planejamento experimental adequado quanto ao tamanho de parcela e do número de repetições pode propiciar sucesso na conservação de materiais genéticos (STORCK et al., 2005). O tamanho ótimo de parcela é uma das maneiras fundamentais de se promover o aumento da precisão experimental e, conseqüentemente, gerar a maximização das informações coletadas no experimento. O método proposto por SMITH (1938) é o precursor de vários outros métodos para determinar o tamanho de parcelas, o qual é baseado na relação entre variância dos totais de parcelas de diferentes tamanhos e o tamanho de parcela. O método da máxima curvatura (LE CLERG, 1967), método da curvatura máxima (LESSMAN & ATKINS, 1963) e o método da máxima curvatura modificado (MEIER & LESSMAN, 1971) são os mais utilizados na determinação do tamanho das parcelas, utilizando para isso a relação entre o coeficiente de variação e o tamanho da parcela. PARANAÍBA et al. (2009a, 2009b) propuseram a utilização de método baseado no modelo linear de resposta com platô para estimar o tamanho de parcela.

A definição do número de explantes por parcela, em experimentos de micropropagação, tem sido feito de modo empírico, com base na experiência do pesquisador. Por exemplo, PASSOS et al. (2004) utilizaram parcela constituída por um frasco com cinco sementes e dez repetições, para verificarem o efeito de doses de ácido giberélico, associado com presença e ausência de luz na germinação de sementes de *Passiflora nitida*. Avaliando transformações genéticas no maracujazeiro para resistência ao vírus do endurecimento dos frutos, TREVISAN & MENDES (2005) utilizaram o delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, cada repetição constituída de uma magenta com cinco explantes. Já, em experimento de estabelecimento *in vitro* de maracujazeiro, FARIA et al. (2007) usaram parcelas formadas por uma magenta contendo um explante, e LIMA et al. (2008) usaram o delineamento inteiramente casualizado, sendo cada tratamento repetido 20 vezes e cada parcela formada por um tubo, cada tubo contendo um explante. VILLA et al. (2008) utilizaram parcela constituída por três tubos, contendo um explante em cada.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi de estimar o tamanho ótimo de parcelas para experimentos de conservação *in vitro* de maracujá *Passiflora giberti* N. E. Brown, utilizando-se o modelo

de regressão linear segmentado com platô e o modelo de regressão quadrático segmentado com platô.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados utilizados foram provenientes de experimento conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia, utilizando-se, como material vegetal, segmentos nodais com aproximadamente 1 (um) cm de comprimento, de plantas de maracujazeiro *Passiflora giberti* N. E. Brown, oriundos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Os segmentos (explantes) de plântulas cultivados *in vitro* foram dispostos em magentas® contendo 20mL do meio de cultura MS, suplementado com 10, 20 e 40g L⁻¹ de sorbitol combinados com 0, 15 e 30g L⁻¹ de sacarose, mais uma testemunha com meio MS padrão, contendo 30g L⁻¹ de sacarose. Todos os tratamentos foram gelificados com 2g L⁻¹ de phytigel®, ajustados a um pH de 5,8 e sem adição de fitoreguladores. O cultivo foi realizado sob condições de fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 27±1 °C e densidade de fluxo de fótons 22μE m⁻² s⁻¹, permanecendo nessas condições por 60 dias.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com os tratamentos dispostos em esquema fatorial 3×3+1, com 10, 20 e 40g L⁻¹ de sorbitol combinados com 0, 15 e 30g L⁻¹ de sacarose, mais uma testemunha com meio MS padrão, contendo 30g L⁻¹ de sacarose. Cada um dos 10 tratamentos foi considerado como um ensaio de uniformidade, sendo cada ensaio constituído por 20 unidades básicas (ub). Cada unidade básica foi constituída de um explante por magenta®. A avaliação dos ensaios foi realizada aos 60 dias após incubação, observando-se o comprimento das brotações (cm).

As unidades básicas em cada ensaio foram dispostas aleatoriamente e convenientemente com número diferentes de linhas e colunas. Após essa disposição, construíram-se 15 diferentes tamanhos de parcela, formados por X₁ unidades básicas na linha e X₂ unidades básicas na coluna. Os tamanhos de parcela foram simulados pelo agrupamento de unidades básicas adjacentes, de modo que X₁ X₂ correspondesse a X (tamanho da parcela em número de unidades básicas).

Para cada simulação, foram estimados os parâmetros: número de parcelas (N), totais e médias das parcelas com X unidades básicas, variância por unidade básica e o coeficiente de variação (CV), o qual foi usado como medida de variabilidade. Nas parcelas simuladas com diferentes formas, mas com o mesmo

tamanho, foi considerada a média aritmética dos coeficientes de variação. Os métodos de estimação utilizados para determinar o tamanho ótimo de parcelas foram baseados no modelo de regressão linear segmentado com platô (LRP) e no modelo de regressão quadrático segmentado com platô (LRQ), conforme denominados de modelos lineares de resposta com platô por ANDERSON & NELSON (1975).

O modelo de regressão linear segmentado com platô possui dois segmentos (SCHABENBERGER & PIERCE, 2002), o primeiro descreve uma reta crescente ou decrescente até um determinado valor P da curva, que é o platô de resposta, e a partir desse o valor assume uma constante. Esse modelo pode ser representado por:

$$CV_i = \begin{cases} \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i & \text{se, } X_i \leq X_c \\ P + \varepsilon_i & \text{se, } X_i > X_c \end{cases}, \quad i=1, \dots, 10 \quad (1)$$

em que CV é o coeficiente de variação entre totais de parcelas de tamanho X_i , no i -ésimo ensaio de uniformidade; X_i é o número de unidades básicas agrupadas; X_c é o parâmetro relativo ao tamanho ótimo de parcelas para o qual o modelo linear se transforma em um platô, em relação à abscissa; P é o coeficiente de variação no ponto correspondente ao platô; β_0 é o intercepto e β_1 o coeficiente angular do segmento linear e ε_i é o erro aleatório associado ao CV_i , considerados independentes e normalmente distribuídos com média 0 e variância constante. O valor estimado de X_c é o tamanho ótimo de parcelas (em unidades básicas) que será recomendado para esse tipo de experimento. Assim, o tamanho ótimo da parcela foi estimado pela expressão $x_c = (\hat{P} - \hat{\beta}_0) / \hat{\beta}_1$, em que $\hat{\beta}_0$, $\hat{\beta}_1$ e \hat{P} representam os valores das estimativas dos parâmetros do modelo (1).

O tamanho ótimo de parcela também foi estimado utilizando-se o modelo de regressão quadrática segmentado com platô, o qual é representado por uma fase decrescente ou crescente, descrita por uma equação do segundo grau e, após a estabilização, por um platô. O tamanho ótimo de parcelas é definido pelo ponto de encontro da função quadrática e o platô. Pensou-se na utilização desse modelo pelo fato de que, em geral, ocorre redução no coeficiente de variação, à medida que se aumenta o número de unidades básicas agrupadas por parcela, e essa redução pode apresentar um comportamento quadrático.

O modelo de regressão quadrático segmentado com platô é representado por:

$$CV_i = \begin{cases} \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_i^2 + \varepsilon_i & \text{se } X_i \leq X_c \\ P + \varepsilon_i & \text{se } X_i > X_c \end{cases}, \quad i=1, \dots, 10 \quad (2)$$

em que β_0 , β_1 , β_2 são parâmetros a serem estimados do primeiro segmento (quadrático) e os demais componentes do modelo têm definição idênticas aos do modelo (1).

Para valores de X_i (X_c , os valores de CV_i são explicados por um modelo quadrático e, para valores de $X_i > X_c$, a equação explicativa é uma constante e paralela à abscissa. Esse ponto representa a junção do segmento quadrático com o segmento de platô. O ponto de junção entre o modelo quadrático e o platô define o tamanho ótimo de parcela, o qual é

estimado por: $x_c = -\frac{\beta_1}{2\beta_2}$. Substituindo X_c na expressão

(2), obtém-se o valor correspondente ao platô, dado

por $P = \beta_0 - \frac{\beta_1^2}{4\beta_2}$. Nesse caso, têm-se três parâmetros

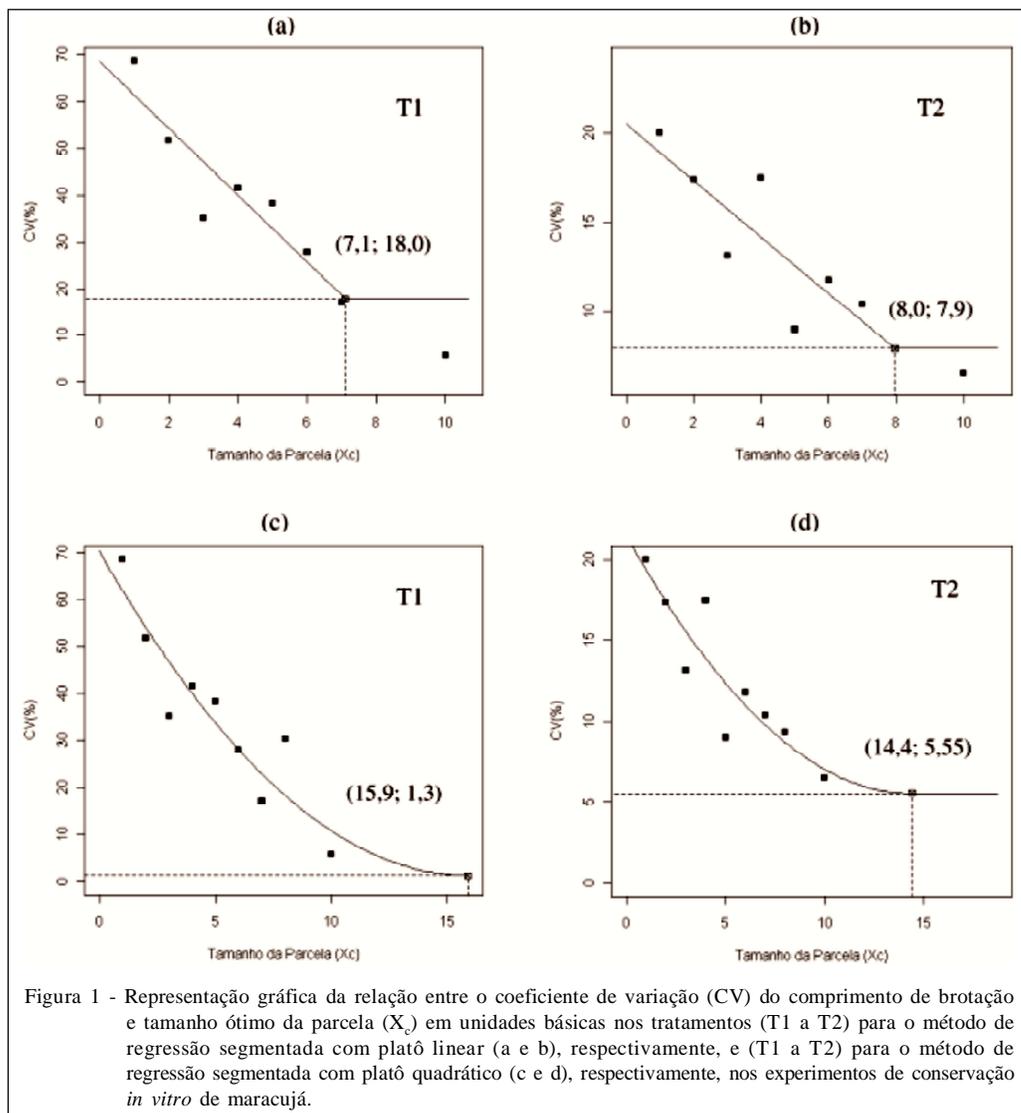
efetivos, pois tanto X_c quanto P são determinados a partir de β_0 , β_1 e β_2 .

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se de rotinas específicas do programa computacional livre R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio do ajuste do modelo linear segmentado com platô, observou-se uma grande variabilidade no coeficiente de variação, com valores variando de 2% (no T4 - 0g L⁻¹ de sacarose e 40g L⁻¹ de sorbitol) até próximos de 98% (no T8 - 30g L⁻¹ de sacarose e 10g L⁻¹ de sorbitol), como mostrado na figura 1, sugerindo que a medida de variabilidade (CV) difere bastante entre os tratamentos.

A aplicação do modelo de regressão linear segmentada com platô (LRP) permitiu descrever o comportamento da variabilidade medida pelo CV , ao longo dos tamanhos de parcelas simulados. Pode-se destacar que o ajuste do modelo de regressão com platô em todos os tratamentos pode ser considerado bom, com valores do coeficiente de determinação variando de 56,84% a 94,94% (Tabela 1). As estimativas do tamanho ótimo de parcela (X_c) variaram de 3 (ub) (T5 - 15g L⁻¹ de sacarose e 10g L⁻¹ de sorbitol), correspondente a um coeficiente de variação de 12,75% no platô, a 8 (ub) (T2 - 0g L⁻¹ de sacarose e 10g L⁻¹ de sorbitol), representando um platô no coeficiente de variação de 7,92% (Tabela 1). Estes valores se encontram próximos aos utilizados por RIBAS et al. (2002) e MARTINEZ et al. (2005), que usaram parcelas formadas por seis explantes e bem diferentes aos usados por FARIA et al. (2007), que utilizaram parcelas com um explante.



De acordo com o modelo de regressão linear segmentado com platô, a partir do ponto (X_c), o tamanho de parcela se faz suficiente, não havendo mais necessidade de aumentá-lo, pois não se tem ganho substancial em aumento de precisão experimental. Esse fato sugere que o tamanho de parcela estimado por este método seja adequado, o que está de acordo com o trabalho de PARANAÍBA et al. (2009a), que verificaram ser o método LRP tão bom ou até melhor que o método da curvatura máxima.

Como o interesse maior é na avaliação global de todos os tratamentos, uma alternativa seria utilizar o maior tamanho de parcela; nesse caso, oito unidades básicas para constituir o tamanho ótimo de parcela. No entanto, uma sugestão mais cautelosa seria utilizar a média dos tamanhos de parcela dos diferentes

tratamentos, aqui com 5,3 unidades básicas ou aproximadamente seis explantes, sendo economicamente mais viável.

As estimativas do tamanho de parcela obtidas pelo modelo de regressão quadrático segmentado com platô foram maiores do que aquelas calculadas pelo modelo de regressão linear segmentado (Tabela 2), provavelmente devido à curvatura do modelo no seu primeiro segmento. Os tamanhos de parcelas variaram de 5 a 16 unidades básicas, de acordo com o tratamento. Esses resultados estão próximos aos valores encontrados na literatura: como RIBAS et al. (2002) utilizaram para cada tratamento dez placas com seis explantes por parcela; COSTA & AYUB (2002) utilizaram o delineamento em blocos aleatorizados, constituído de seis tratamentos com cinco repetições

Tabela 1 - Estimativas dos parâmetros do modelo de regressão linear segmentado com platô, do coeficiente de variação no platô de resposta (P), do tamanho ótimo de parcela (X_c) no ponto de platô e do coeficiente de determinação (R^2) para os diferentes tratamentos de conservação *in vitro* de maracujá.

Tratamentos	-----Parâmetros-----		Coeficiente de variação P	Tamanho de parcela * X_c	Coeficiente de determinação r2
	β_0	β_1			
T1	68,562	-7,117	18,03	7,1	0,8004
T2	20,511	-1,583	7,92	8,0	0,7773
T3	57,320	-6,362	11,70	7,2	0,9494
T4	13,140	-1,746	2,90	5,6	0,8212
T5	104,217	-27,570	12,75	3,3	0,9346
T6	51,224	-3,526	31,73	5,5	0,5950
T7	36,140	-7,845	8,57	3,5	0,7536
T8	116,053	-22,295	36,68	3,6	0,8113
T9	49,334	-5,449	12,18	6,2	0,5684
T10	20,894	-3,026	4,03	5,6	0,8742

* Média de 5,3 explantes no tamanho da parcela (platô linear).

contendo 10 explantes por placa; um pouco maiores que os três explantes por parcela usados por AIRES et al. (2007) e; os quatro usados por RIBEIRO et al. (2006).

Ao comparar os dois modelos com base nos valores dos coeficientes de determinação, o método de regressão quadrático proporciona melhores ajustes, o que era esperado, devido ao maior número de parâmetros. No entanto, um possível “falso” platô pode ser obtido ao se utilizar de modelos segmentados, pois nem sempre existe amplitude suficiente nos tamanhos e parcelas simulados para se alcançar uma resposta com platô, como é mais comum ocorrer com o modelo quadrático.

Os tamanhos de parcelas estimados não devem ser vistos como tamanho ótimo de parcela, mas

como mínimos, pois suas estimativas variam em relação aos diferentes tratamentos, logo, também irão apresentar variações entre experimentos. Os valores dos tamanhos de parcelas estimados por meio dos modelos propostos encontram-se próximos aos usados em várias pesquisas, podendo ser utilizados como referência em experimentos de conservação *in vitro* de maracujazeiro. A caracterização de forma adequada da parcela confere maior precisão, endossa a inferência dos resultados, pois, segundo DONATO et al. (2008), independentemente dos objetivos dos experimentos, o que se procura detectar é a existência de diferenças significativas entre tratamentos testados.

Desse modo, sugere-se utilizar parcelas formadas por, no mínimo, 5,3 unidades básicas ou,

Tabela 2 - Estimativas dos parâmetros do modelo de regressão quadrático segmentado de com platô, do coeficiente de variação no platô de resposta (P), do tamanho ótimo da parcela (X_c) no ponto de platô e do coeficiente de determinação (R^2) para os diferentes tratamentos de conservação *in vitro* de maracujá.

Tratamentos	-----Parâmetros-----			Coeficiente de variação P	Tamanho de parcela * X_c	Coeficiente de determinação r2
	β_0	β_1	β_2			
T1	70,344	-8,683	0,273	1,32	15,9	0,848
T2	21,545	-2,225	0,077	5,55	14,4	0,808
T3	59,839	-8,498	0,325	4,32	13,1	0,952
T4	14,804	-2,955	0,178	2,46	8,3	0,877
T5	113,988	-41,425	4,179	11,33	5,0	0,951
T6	53,246	-5,129	0,286	30,32	8,9	0,656
T7	37,105	-9,941	0,837	7,59	5,9	0,795
T8	129,821	-38,476	3,955	36,25	4,9	0,890
T9	51,628	-6,571	0,256	9,51	12,8	0,644
T10	24,815	-5,992	0,435	4,19	6,9	0,916

* Média de 9,6 explantes no tamanho da parcela (platô quadrático).

aproximadamente, seis explantes, para constituir a parcela experimental, correspondente à média dos tamanhos de parcelas entre os tratamentos, quando se utilizou o modelo de regressão linear segmentado. Caso haja disponibilidade de material, esse valor pode ser visto como um tamanho de parcela mínimo, podendo o pesquisador adotar qualquer valor acima deste, por exemplo, 10 explantes que correspondem à média dos tamanhos de parcela obtida pelo método de regressão quadrático.

CONCLUSÃO

Os tamanhos de parcelas variaram de acordo com o método de estimação utilizado. Foram encontrados valores para o tamanho ótimo de parcela de seis explantes pelo método de regressão linear e de dez explantes pelo modelo de regressão quadrático com platô.

Sugere-se utilizar parcelas formadas por 10 unidades básicas em experimentos com conservação *in vitro* da espécie *Passiflora giberti* N. E. Brown, pois foi o número de unidades que satisfaz todos os tratamentos testados.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos ao Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela bolsa e apoio financeiro concedidos.

REFERÊNCIAS

AIRES, P.S.R. et al. Efeito da concentração de vitaminas e das fontes de carbono no superbrotamento da mamona utilizado o genótipo BRS Nordestina. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.7, n.2, p.1-5, 2007.

ANDERSON, R.L.; NELSON, L.A. A family of models involving intersecting straight lines and concomitant experimental designs useful in evaluating response to fertilizer nutrients. **Biometrics**, v.31, n.2, p.303-318, 1975. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/2529422>>. Acesso em: 15 nov. 2009. ISSN: 0006341X E-ISSN: 15410420.

COSTA, C.M., AYUB, R.A. Fluxo radicante na organogênese do maracujazeiro amarelo. **Scientia Agricola**, v.3, n.1-2, p.103-106, 2002.

DONATO, S.L.R. et al. Estimativas de tamanho de parcelas para avaliação de descritores fenotípicos em bananeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.8, p.957-969, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100204X200800080003&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 10 nov.09. doi:10.1590/S0100204X2008000800003.

FARIA, G.A. et al. Meio de cultura e tipo de explante no estabelecimento *in vitro* de espécies de maracujazeiro. **Bragantia**,

v.66, n.4, p.535-543, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052007000400002>. Acesso em: 17 jan. 2008. doi: 10.1590/S0006-87052007000400002.

LE CLERG, E.L. Significance of experimental design in plant breeding. In: FREY, K.J. **Plant breeding symposium**. Ames: Iowa State University, 1967. p.243-313.

LESSMAN, K.J.; ATKINS, R.E. Optimum plot size and relative efficiency of lattice designs for grain sorghum yield test. **Crop Science**, v.3, n.6, p.477-481, 1963.

LIMA, E.C. et al. Callus induction in segments of *Croton urucurana* Baill. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.1, p.17-22, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141370542008000100002&lng=en&nrm=iso&tlng=en&nrm=iso>. Acesso em: 20 out. 2009. doi: 10.1590/S1413-70542008000100002.

MARTINEZ, C.O. et al. Glifosate e glufosinato como agentes seletivos para transformação genética de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). **Revista Brasileira de Herbicidas**, v.3, p.18-34, 2005. Disponível em: <<http://www.rbherbicidas.com.br/index.php/rbh/article/view/34/27>>. Acesso em: 19 out. 2009. ISSN (Online) 2236-1065.

MEIER, V.D.; LESSMAN, K.J. Estimation of optimum field plot shape and size for testing yield in *Crambe abyssinica* Hochst. **Crop Science**, v.11, p.648-650, 1971. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S14137054200700050002100006&pid=S1413-70542007000500021&lng=en>>. Acesso em: 26 out. 2009. IDS Number: K6734 ISSN: 0011-183X.

PARANAÍBA, P.F. et al. Tamanho ótimo de parcelas experimentais: proposição de métodos de estimação. **Revista Brasileira de Biometria**, v.27, n.2, p.255-268, 2009a.

PARANAÍBA, P.F. et al. Tamanho ótimo de parcelas experimentais: comparação de métodos em experimentos de trigo e mandioca. **Revista Brasileira de Biometria**, v.27, n.1, p.81-90, 2009b.

PASSOS, I.R.S. et al. Utilização do ácido giberélico para quebra de dormência de sementes de *Passiflora nitida* Kunth germinadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.2, p.380-381, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010029452004000200051&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 02 maio, 2009. doi: 10.1590/S0100-29452004000200051.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Viena: R Foundation for Statistical Computing, 2010. Disponível em: www.R-project.org. Acesso em: 15 nov. 2010.

RIBAS, A.F. et al. Misturas vitamínicas na regeneração do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). **Ciência Rural**, v.32, n.2, p.237-241, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782002000200009&script=sci_arttext>. Acesso em: 25 nov. 2009. doi: 10.1590/S0103-84782002000200009.

RIBEIRO, L.M. et al. Organogênese *in vivo* em acessos de maracujazeiro amarelo infectados pelo vírus CABMV.

Unimontes Científica, v.8, n.1, p.87-98, 2006. Disponível em: <http://www.unimontes.br/unimontescientifica/revistas/Revista%20V8_N1/ARTIGOS/Organogenese_in_Vitro/Organogenese_in_vitro%20v8n1.pdf>. Acesso em: 26 out. 2009. ISSN 1519-2571.

SCHABENBERGER, O.; PIERCE, F.J. **Contemporary statistical models for the plant and soil sciences**. 2.ed. Boca Raton: CRC, 2002. 738p.

SMITH, H.F. An empirical law describing heterogeneity in the yields of agricultural crops. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.28, n.1, p.1-23, 1938.

STORCK, L. et al. Comprimento e largura do tamanho ótimo da parcela experimental em batata. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1043-1048, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/>

[scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782005000500009](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782005000500009)>. Acesso em: 26 out. 2009. doi: 10.1590/S0103-84782005000500009.

TREVISAN, F.; MENDES, B.M.J. Optimization of in vitro organogenesis in passion fruit (*Passiflora edulis* f. *Flavicarpa*). **Sciencia Agricola**, v.62, n.4, p.346-350, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-90162005000400007&script=sci_arttext>. Acesso em: 24 nov 2009. doi: 10.1590/S0103-90162005000400007.

VILLA, F. et al. Cloreto de potássio e fosfato de sódio na multiplicação *in vitro* de amoreira preta cv Tupi. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.1, p.37-41, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542008000100005&script=sci_arttext>. Acesso em: 20 mar. 2010. doi: 10.1590/S1413-70542008000100005.