

Micropropagação de espécies florestais brasileiras

Leandro Silva de Oliveira¹, Poliana Coqueiro Dias², Gilvano Ebling Brondani³

¹Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Av. Pádua Dias, nº 11, CEP 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil

²Universidade Federal de Viçosa, Av. P.H. Rolfs, s/nº, CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil

³Universidade Federal de Mato Grosso, Av. Fernando Corrêa da Costa, nº 2367, CEP 78060-900, Cuiabá, MT, Brasil

***Autor correspondente:**

leandrooliveiraufv@yahoo.com.br

Termos para indexação:

Clonagem

Regeneração *in vitro*

Cultura de tecidos vegetais

Index terms:

Cloning

In vitro regeneration

Plant tissue culture

Histórico do artigo:

Recebido em 02/02/2013

Aprovado em 12/12/2013

Publicado em 31/12/2013

doi: 10.4336/2013.pfb.33.76.481

Resumo - A micropropagação apresenta um enorme potencial de aplicação para a multiplicação de genótipos de espécies florestais brasileiras de interesse. Os estudos relativos ao cultivo *in vitro* de tais espécies estão relacionados, principalmente, a ausência de resposta morfogênica às demais técnicas de propagação bem como, a conservação *in vitro* de germoplasma. A micropropagação via proliferação de gemas axilares corresponde ao principal sistema de propagação *in vitro* utilizado para a multiplicação de genótipos selecionados, em razão da maior simplicidade ao comparar com a organogênese e embriogênese somática. Entretanto, em vista das espécies florestais nativas serem pouco estudadas, os avanços quanto a propagação *in vitro* ainda são poucos expressivos. Dessa forma, é necessária a condução de novos trabalhos para promover avanços do cultivo *in vitro* nestas espécies, bem como o desenvolvimento de novas composições de meios de cultura, testar a interação de reguladores de crescimento ou, até mesmo, sistemas de biorreatores, buscando assim, consolidar a técnica de micropropagação como estratégia aplicável na silvicultura de espécies nativas.

Micropropagation of Brazilian forest species

Abstract - Micropropagation has potential application for multiplication of genotypes of Brazilian forest species. The studies on the *in vitro* culture of these species are related to their recalcitrance to other propagation techniques as well as *in vitro* conservation of plant germplasm. Micropropagation via axillary bud proliferation corresponds to the main system used for *in vitro* propagation, due its simplicity compared to organogenesis and somatic embryogenesis. However, the native forest species are poorly studied consequently the advances in the propagation *in vitro* are still few expressive. Thus, it is necessary to develop new works to promote advances in *in vitro* culture of native species, as the use of new media culture compositions, growth regulators or even bioreactor systems, seeking to consolidate the technical as applicable strategy in the Brazilian silviculture.

Introdução

No Brasil, a madeira e outros produtos não-madeireiros obtidos a partir das espécies florestais da flora brasileira são obtidos quase que exclusivamente da exploração das florestas naturais (Plano..., 2006). Por exemplo, os segmentos de madeira serrada e, mesmo o de carvão vegetal, dependem em grande parte do abastecimento de matéria-prima por parte

das formações florestais nativas (Fick, 2007; Shimizu, 2007). Em consequência, a exploração indiscriminada das florestas nativas tem posto muitas espécies e, até mesmo populações em risco de extinção, como por exemplo, *Araucaria angustifolia* (Sousa & Aguiar, 2012), *Swietenia macrophylla* (Silva et al., 2004) e *Dalbergia nigra* (Sartor et al., 2013). Dessa forma, são essenciais estudos visando o aperfeiçoamento de técnicas de multiplicação em larga escala de espécies nativas para

aplicação em plantios homogêneos, recuperação de áreas degradadas, melhoramento genético e conservação de germoplasma.

A propagação da maioria das espécies florestais é realizada via seminal, principalmente, devido à ausência de informações silviculturais destas espécies (Dias et al., 2012) e pela maior facilidade operacional e menores custos de produção que o método apresenta. No entanto, há problemas quanto à propagação seminal de várias espécies florestais nativas devido à baixa porcentagem de germinação, que muitas vezes é decorrente da dormência das sementes (Ferrari et al., 2004). Acrescenta-se ainda, dificuldades de obtenção e coleta de sementes em quantidade suficiente para a produção de mudas (Debnath, 2004), pois muitas espécies produzem quantidades variáveis e em intervalos irregulares ao longo do tempo, aliado ao desconhecimento sobre a fenologia das espécies florestais nativas (Viani & Rodrigues, 2007), fatores que acarretam em longo período de tempo para a produção da muda (Nepomuceno et al., 2009).

A falta de sementes melhoradas geneticamente, ou pouco conhecimento tecnológico disponível a respeito da silvicultura da maior parte das espécies nativas e a falta de disponibilização dos conhecimentos vindos das poucas iniciativas de plantio, ainda não permitem a adoção de medidas extensivas que possam estimular e favorecer novos empreendimentos sem incorrer em potenciais riscos (Plano..., 2006). Dessa forma, a propagação vegetativa apresenta-se como alternativa de multiplicação no que se refere às dificuldades na propagação seminal de espécies florestais nativas, tanto ao considerar as finalidades comerciais quanto a conservação de recursos genéticos.

No Brasil, as pesquisas relativas à clonagem de espécies florestais nativas ainda contemplam poucas espécies e técnicas de clonagem (Santos et al., 2011). Atualmente, as aplicações da micropropagação de espécies nativas destinam-se, principalmente, aos genótipos considerados de difícil multiplicação pelos tradicionais métodos de propagação (Fick, 2007; Pelegrini et al., 2011), aos que produzem metabólitos secundários de interesse farmacológico (Fumagali et al., 2008), a conservação de germoplasma *in vitro* de espécies que se encontram ameaçadas de extinção (Nunes et al., 2003; Noletto & Silveira, 2004; Souza & Pereira, 2007; Malosso et al., 2012), bem como ao desenvolvimento de técnicas de biologia molecular (Xavier et al., 2013; Sobha et al., 2003). Esta revisão aborda as pesquisas relacionadas

com a micropropagação de espécies nativas, bem como, as perspectivas e tendências de aplicação de novas técnicas biotecnológicas.

Micropropagação de espécies florestais nativas

A propagação *in vitro* pode constituir uma alternativa econômica adequada em relação aos métodos clássicos de propagação de espécies florestais nativas, pois além de oferecer a possibilidade de propagação de árvores selecionadas, possibilita a limpeza clonal, obtendo-se plantas livres de vírus por meio de ápices caulinares e meristemas, superando problemas de contaminação patogênica (Wendling et al., 2006). Além disso, a alta taxa de multiplicação acelera os programas de propagação clonal, fato que possibilita a propagação vegetativa de genótipos de alto valor comercial e de difícil enraizamento (Teixeira, 2001).

Segundo dados do Serviço Florestal Brasileiro (2012) no Brasil há cerca de 7.880 espécies florestais arbóreas. Apesar desse elevado o número das pesquisas em relação a micropropagação de espécies florestais nativas ainda são reduzidas. No entanto, deve-se considerar a importância destes trabalhos, os quais podem contribuir significativamente para a produção comercial de espécies de elevado interesse, possibilitando sua multiplicação rápida em larga escala e em curto espaço de tempo.

Dentre os principais problemas existentes na micropropagação, ressalta-se a recalcitrância de várias espécies nativas ao cultivo *in vitro* e a contaminação por microrganismos (tanto exógena quanto endógena), representando limitações ao estabelecimento das culturas em condições *in vitro* (Xavier et al., 2013). Além disso, as respostas das plantas às técnicas de micropropagação são variáveis, e dependem da espécie, variedade e/ou cultivar, época de coleta, tipo de explante utilizado e condições de cultivo (Wendling et al., 2006).

A micropropagação de espécies florestais pode ser realizada via proliferação de gemas axilares, organogênese e embriogênese somática (Xavier et al., 2013). A variabilidade genética entre espécies e dentro da mesma espécie pressupõe o ajuste da metodologia para cada material genético, o que torna o processo demorado, e em certas ocasiões, oneroso (Wendling et al., 2006). A micropropagação pela proliferação de gemas axilares provenientes de explantes obtidos tanto de plântulas como de material adulto, corresponde ao método mais utilizado na propagação *in vitro* de várias espécies lenhosas (Tabela 1).

Tabela 1. Exemplo de espécies florestais nativas do Brasil propagadas *in vitro* sob diferentes sistemas de micropropagação.

Espécies	Explante	Nome comum	Sistema de micropropagação	Referência
<i>Acca sellowiana</i>	embriões zigóticos	goiabeira serrana	embriogênese somática	Booz & Pescador (2007)
<i>Acrocomia aculeata</i>	embriões zigóticos	macaúba	embriogênese somática	Moura et al. (2008)
<i>Amburana acreana</i>	segmentos nodais	cerejeira	proliferação de gemas axilares	Fermino Junior & Pereira (2012)
<i>Anadenanthera colubrina</i> var. <i>cebil</i>	plântulas	angico	proliferação de gemas axilares	Nepomuceno et al. (2009)
<i>Aniba rosaeodora</i>	embriões zigóticos gemas apicais	pau-rosa	proliferação de gemas axilares	Handa et al. (2005)
<i>Araucaria angustifolia</i>	embriões zigóticos	araucária	embriogênese somática	Astarita & Guerra (2000); Santos et al. (2002)
<i>Aspidosperma ramiflorum</i>	segmentos apicais	guatambu-amarelo	proliferação de gemas axilares	Hubner et al. (2007)
<i>Aspidosperma polyneuron</i>	segmentos nodais	peroba-rosa	proliferação de gemas axilares	Ribas et al. (2005)
<i>Cabralea canjerana</i>	segmentos nodais	canjarana	proliferação de gemas axilares	Rocha et al. (2007)
<i>Caesalpinia echinata</i>	foliólulos	pau-brasil	calogênese ¹	Werner et al. (2007; 2009)
<i>Caesalpinia pyramidalis</i>	segmentos apicais segmentos nodais plântulas	catingueira	proliferação de gemas axilares	Silva et al. (2012)
<i>Caryocar brasiliense</i>	segmentos nodais	pequizeiro	proliferação de gemas axilares	Santos et al. (2006)
<i>Cedrela fissilis</i>	segmentos nodais	cedro	proliferação de gemas axilares	Nunes et al. (2002), Amaral (2006)
<i>Cedrela odorata</i>	segmentos apicais	cedro	proliferação de gemas axilares	Saldanha et al. (2010)
<i>Celtis</i> sp.	segmentos nodais	juazeiro-de -bode	proliferação de gemas axilares	Sato et al. (2001)
<i>Cordia trichotoma</i>	plântulas	louro-pardo	proliferação de gemas axilares	Fick et al. (2007), Heberle (2010)
<i>Cordia trichotoma</i>	segmentos nodais	louro-pardo	proliferação de gemas axilares	Mantovani et al. (2001)
<i>Dalbergia nigra</i>	segmentos apicais segmentos nodais	jacarandá da Bahia	proliferação de gemas axilares	Sartor et al. (2013)
<i>Didymopanax morototoni</i>	raiz caule nódulo foliar folha cotiledonar	morototó, caixeta	embriogênese somática	Franco et al. (2006)
<i>Erythrina velutina</i>	plântulas	mulungu	proliferação de gemas axilares	Costa et al. (2010)
<i>Eugenia involucrata</i>	segmentos apicais segmentos nodais	cerejeira-do-rio-grande	proliferação de gemas axilares	Golle et al. (2012)
<i>Eugenia pyriformis</i>	segmentos nodais	uvaieira	proliferação de gemas axilares	Nascimento et al. (2008a, 2008b)
<i>Guazuma crinita</i>	plântulas	bolaina blanca	proliferação de gemas axilares	Maruyama et al. (1996)
<i>Guazuma crinita</i>	raízes e pecíolos		organogênese	Maruyama et al. (1997)
<i>Hancornia speciosa</i>	plântulas segmentos nodais	mangaba	organogênese proliferação de gemas axilares	Soares et al. (2007) Sá (2009), Léo et al. (2007, 2011), Sá et al. (2012)
<i>Handroanthus impetiginosus</i>	epicótilos	ipê rosa	proliferação de gemas axilares	Larraburu et al. (2012)
<i>Ilex paraguariensis</i>	embriões zigóticos segmentos nodais	erva-mate	proliferação de gemas axilares proliferação de gemas axilares	Horbach et al. (2011) Santos & Wendling (2010)

¹ = desenvolvimento de desorganizado de células, sem a formação de órgãos.

Tabela 1. Continuação.

Espécies	Explante	Nome comum	Sistema de micropropagação	Referência
<i>Jacaranda decurrens</i>	segmentos nodais	carobinha	proliferação de gemas axilares	Malosso et al. (2012)
<i>Luehea divaricata</i>	segmentos apicais	çoita-cavalo	proliferação de gemas axilares	Flôres et al. (2011)
	segmentos nodais			
	fragmentos foliares		calogênese ¹	León (2010)
	segmentos nodais			
<i>Maclura tinctoria</i>	segmentos nodais	taiúva	proliferação de gemas axilares	Gomes et al. (2010)
<i>Miconia</i> sp.	segmentos nodais	jacatirão	organogênese	Cid et al. (1997)
	folhas			
<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>	segmentos apicais	sabiá	proliferação de gemas axilares	Oliveira et al. (2007)
	segmentos nodais			
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	segmentos apicais	aroeirinha	proliferação de gemas axilares	Andrade et al. (2000)
	segmentos nodais			
<i>Myrciaria aureana</i>	cotilédones	jaboticaba	embriogênese somática	Motoike et al. (2007)
<i>Moringa oleifera</i>	plântulas	moringa	proliferação de gemas axilares	Cysne (2006)
	ápices caulinares			
<i>Myrcianthes pungens</i>	segmentos apicais	gabijuzeiro	proliferação de gemas axilares	Souza et al. (2011)
<i>Ocotea odorifera</i>	embriões zigóticos	canela sassafrás	proliferação de gemas axilares	Silva et al. (2001), Moritz et al. (2009)
<i>Ocotea catharinensis</i>	embriões zigóticos	canela preta	proliferação de gemas axilares	Moritz et al. (2009)
<i>Ocotea porosa</i>	embriões zigóticos	imbuia	proliferação de gemas axilares	Moritz et al. (2009)
	segmentos apicais			Pelegri et al. (2011)
<i>Parapiptadenia rigida</i>	plântulas	angico-vermelho	proliferação de gemas axilares	Kielse et al. (2009), Nascimento (2008)
<i>Peltophorum dubium</i>	segmentos apicais	canafistula	proliferação de gemas axilares	Bassan et al. (2006)
	segmentos nodais			
	epicótilo			Curti (2011)
<i>Plathymenia reticulada</i>	segmentos cotiledonares	vinhático	proliferação de gemas axilares	Moura et al. (2012)
	segmentos nodais			
<i>Schizolobium parayba</i> var. <i>amazonicum</i>	eixos embrionários	paricá	proliferação de gemas axilares	Reis et al. (2009)
<i>Schizolobium amazonicum</i>	segmentos nodais	paricá	proliferação de gemas axilares	Cordeiro et al. (2004a,b)
<i>Sebastiania schottiana</i>	segmentos nodais	sarandi	proliferação de gemas axilares	Deschamps & Pinto. (1995)
<i>Stryphnodendron polyphythum</i>	segmentos cotiledonares	barbatimão	proliferação de gemas axilares	França et al. (1995)
<i>Swietenia macrophylla</i>	plântulas	mogno	proliferação de gemas axilares	Couto et al. (2004) e
	segmentos apicais e nodais	mogno	proliferação de gemas axilares	Lameira et al. (2005)
	segmentos nodais	mogno	proliferação de gemas axilares	Pinto (2012)
	epicótilo e folhas		calogênese ¹	
	epicótilo	mogno	calogênese ¹	Brunetta et al. (2006)
	folhas e raízes	mogno	calogênese ¹	Rocha & Quoirin (2004)
<i>Theobroma grandiflorum</i>	botões florais	cupuaçu	proliferação de gemas axilares	Ferreira et al. (2009)

¹ = desenvolvimento de desorganizado de células, sem a formação de órgãos.

Etapas da micropropagação das espécies florestais

A micropropagação é realizada segundo um determinado procedimento padrão, no qual os explantes oriundos de material vegetal coletado no campo ou em casa de vegetação passam por uma limpeza e desinfestação prévia ao estabelecimento *in vitro* (Dutra et al., 2009). Após o estabelecimento *in vitro*, os explantes são multiplicados, alongados, enraizados *in vitro* ou *ex vitro*, e por último, aclimatizados em ambiente *ex vitro*.

Os diferentes trabalhos publicados de micropropagação das espécies florestais brasileiras se restringem apenas às primeiras fases da micropropagação, que incluem o estabelecimento e a multiplicação *in vitro*. Provavelmente, um dos fatores que restringe o desenvolvimento de protocolos de micropropagação para as espécies corresponde à especificidade de resposta dos genótipos no cultivo *in vitro* (Sobrosa & Corder, 2003). Além disso, a própria variabilidade dos explantes, por ser na maioria dos trabalhos de origem seminal, constitui em uma barreira ao cultivo *in vitro*, exigindo ajustes específicos nas etapas da micropropagação dos genótipos.

Estabelecimento in vitro

O estabelecimento *in vitro* corresponde à fase mais crítica para a maioria das plantas lenhosas (Fermino Junior et al., 2009), principalmente quando se utiliza matrizes adultas selecionadas a campo, devido aos propágulos apresentarem altas taxas de contaminação. Dessa forma, os principais aspectos que devem ser considerados para o sucesso desta fase relacionam-se às condições fisiológicas das plantas matrizes, o processo de assepsia e a manipulação dos explantes.

(1) Seleção dos explantes

Diversos tipos de explantes podem ser utilizados para iniciar a propagação *in vitro*. Na seleção dos explantes, devem ser considerados aspectos como o nível de diferenciação do tecido utilizado e a finalidade da micropropagação (Wendling et al., 2006). De modo geral, a micropropagação de espécies lenhosas é mais restritiva devido ao elevado nível de diferenciação dos tecidos, comparativamente às espécies herbáceas (Villa et al., 2009). Assim, a seleção dos explantes deve ser realizada, preferencialmente, a partir de brotações fisiologicamente ativas em estágio primário de crescimento.

Os explantes coletados a partir de árvores adultas devem possuir características juvenis. Para tanto, empregam-se técnicas de indução de rejuvenescimento da matriz doadora. A decepta das árvores adultas é o principal procedimento recomendado para obtenção de brotações com características juvenis. No entanto, o procedimento é recomendado apenas para aquelas espécies que apresentam a capacidade de rebrota a partir da cepa. Quando a decepta da árvore adulta não é possível, o anelamento parcial na base do tronco é uma alternativa indicada para obtenção de explantes (Alfenas et al., 2009). Outra alternativa refere-se ao resgate de material vegetativo a partir de galhos podados da copa da árvore e acondicionados em casa de vegetação (Almeida et al., 2007; Wendling et al., 2013). As brotações epicórmicas induzidas nos galhos das árvores são utilizadas como explantes para a introdução *in vitro*.

O estado fisiológico da planta-matriz tem grande influência na morfogênese, no crescimento e nas taxas de multiplicação *in vitro*, o que pode ser melhorado com adequado pré-tratamento ambiental das plantas-matrizes, particularmente quanto à nutrição e ao controle fitossanitário (Borges et al., 2011). Os pré-tratamentos aplicados na planta matriz são determinantes para o sucesso da desinfestação e estabelecimento *in vitro* dos explantes, principalmente no que se refere a microorganismos endógenos. Os tratamentos fitossanitários nas plantas matrizes têm por objetivo manter os agentes microbianos internos (endofíticos) nos níveis mais baixos possíveis, enquanto os externos devem ser totalmente eliminados. Em geral, soluções antimicrobianas de ação sistêmica e de contato são pulverizadas nas plantas para o controle de agentes microbianos internos e externos, respectivamente (Wendling et al., 2006). O cultivo e a manutenção das matrizes fornecedoras dos explantes devem ser realizados nas melhores condições de sanidade e fertilidade, sendo recomendado que sejam feitas em condições controladas para que possam receber tratamento fitossanitário e nutrição mineral adequada (Teixeira, 2001), como o cultivo em vaso ou em minijardins clonais em sistemas semi-hidropônicos.

No estabelecimento *in vitro* de *Aspidosperma polyneuron* as mudas, utilizadas como fonte de explantes, foram mantidas em casa de vegetação e previamente pulverizadas com 0,5 g.L⁻¹ de benomyl (fungicida sistêmico benlate-500) (Ribas et al., 2005).

Em *Cordia trichotoma* o controle fitossanitário e nutricional foi feito por meio de pulverizações semanais de solução contendo fungicidas sistêmicos e de contato e, quinzenalmente, mediante regas com solução nutritiva (Mantovani et al., 2001). A manutenção das mudas de *Ocotea porosa* na casa de vegetação como pré tratamento para o estabelecimento *in vitro* contribuiu para haver baixos níveis de contaminação dos explantes no cultivo *in vitro* (Pelegri et al., 2011).

A micropropagação das espécies florestais brasileiras tem sido realizada basicamente utilizando-se propágulos provenientes de sementes germinadas *in vitro*, dada a dificuldade em se obter material de plantas adultas, livre de microrganismos e de serem responsivas à propagação em condições controladas, conforme relatado em diversos trabalhos (Tabela 1). Devido às dificuldades apresentadas na propagação *in vitro* de material adulto há poucos trabalhos que reportam a utilização de segmentos nodais coletados a partir de árvores maduras estabelecidas a campo, a exemplo dos trabalhos reportados com *C. trichotoma* (Mantovani et al., 2001) e *Eugenia involucrata* (Golle et al., 2012).

Os ápices e gemas laterais isolados de plântulas germinadas *in vitro* são os principais tipos de explantes utilizados na micropropagação das espécies florestais. Hubner et al. (2007) e Santos et al. (2006) utilizaram segmentos apicais de material juvenil germinado *in vitro* para multiplicar *Aspidosperma ramiflorum* e *Caryocar brasiliense*, respectivamente. Flôres et al. (2011) e Léon (2010) concluíram que tanto ápices caulinares quanto segmentos nodais podem ser empregados para o estabelecimento *in vitro* de *Luehea divaricata*, assemelhando-se ao resultado encontrado por Bassan et al. (2006) no estabelecimento *in vitro* de *Peltophorum dubium*. Em outro estudo, Nascimento (2008) observou que o segmento cotiledonar foi o melhor tipo de explante para regeneração *in vitro* de *Parapiptadenia rigida* ao comparar com o segmento nodal. Curti (2011) concluiu que o uso de epicótilo contendo o nó cotiledonar eleva em 75% a emissão de brotações axilares de *Peltophorum dubium* em comparação à utilização do epicótilo isoladamente. Da mesma forma, Costa et al. (2010) obtiveram sucesso na propagação *in vitro* de *Erythrina velutina* utilizando segmento nodal e o nó cotiledonar como explantes.

Segundo Wendling et al. (2006), as gemas apicais tendem a apresentar maior capacidade de crescimento que gemas axilares, devido ao forte efeito da dominância

apical. Geralmente, devido ao pequeno número de gemas apicais disponíveis em espécies arbóreas ou à sua maior sensibilidade à desinfestação, utilizam-se gemas axilares ou outros tipos de meristemas, como os oriundos das flores e folhas. Ferreira et al. (2009) utilizaram explantes florais para introdução *in vitro* de *Theobroma grandiflorum*, obtendo sucesso a partir dessa metodologia.

Os embriões ou tecidos de sementes são também utilizados como explantes iniciais na micropropagação. Reis et al. (2009) utilizaram eixos embrionários na micropropagação de *Schizolobium amazonicum*. A utilização deste tipo de explante apresenta vantagens do ponto de vista experimental para a determinação de um protocolo de micropropagação (Wendling et al., 2006). Entretanto, como o embrião é resultado de recombinação gênica, constituindo um novo genótipo, este fato acaba limitando o processo de clonagem de indivíduos superiores estabelecidos a campo.

(2) Desinfestação dos explantes

As plantas lenhosas apresentam dificuldades para o estabelecimento *in vitro*, principalmente devido à contaminação por microrganismos (Erig & Schuch, 2003). Os plantios com espécies nativas ainda ocupam reduzidas áreas, representando um problema para coleta e seleção de explantes para o estabelecimento *in vitro*. O controle fitossanitário da planta doadora de propágulos torna-se difícil em situações em que as plantas matrizes encontram-se em áreas de floresta.

A assepsia dos explantes não expõe os microrganismos endógenos aos agentes desinfestantes. Portanto, sugere-se iniciar o controle asséptico com a aplicação de tratamentos na planta-matriz previamente à coleta de propágulos, o qual caracteriza-se por um procedimento árduo e dispendioso quando a planta encontra-se estabelecida a campo (Xavier et al., 2013). Apesar da maioria dos microrganismos não serem patogênicos, o seu crescimento é acelerado no meio de cultura a tal ponto que competem com os explantes por nutrientes, prejudicando o desenvolvimento e crescimento dos mesmos (Yamazaki et al., 1995).

De acordo com Cid & Zimmermann (2006), o uso de meristemas, de compostos químicos e de plantas germinadas *in vitro* são as alternativas para contornar a contaminação. Mesmo assim, por muitas vezes, não é possível trabalhar com meristemas ou ainda obter explantes em condições assépticas. Dessa forma, várias substâncias com ação germicida são utilizadas

visando a desinfestação dos explantes. Dentre os agentes desinfestantes mais frequentemente utilizados para a assepsia de sementes visando a propagação *in vitro*, destaca-se o hipoclorito de sódio. Este composto apresentou resultados satisfatórios para a desinfestação de sementes de *Swietenia macrophylla* (Couto et al., 2004), *Cedrela fissilis* (Amaral, 2006), *C. trichotoma* (Fick et al., 2007; Heberle, 2010), *Parapiptadenia rigida* (Nascimento, 2008) e *Moringa oleifera* (Cysne, 2006). Outros agentes desinfestantes utilizados são: ácido clorídrico, cloreto de benzalcônico, peróxido de hidrogênio, nitrato de prata, formaldeído e óxido de etileno (Wendling et al., 2006).

As combinações dos princípios ativos desinfestantes podem variar muito (Montarroyos, 2000), sendo necessária adequação de acordo com a espécie e a sensibilidade do tecido a ser desinfestado (Erig & Schuch, 2003). Além disso, a imersão em água quente pode controlar parcialmente os microrganismos associados às sementes, conforme relatado por Flôres et al. (2011) ao desinfestar sementes de *Luehea divaricata*.

O uso de antibióticos e fungicidas em meio de cultura justifica-se quando há contaminação microbiana proveniente de infecções sistêmicas das plantas matrizes (Wendling et al., 2006). Além dos antibióticos e fungicidas, o uso de antioxidantes é justificável em espécies lenhosas cujo estabelecimento e crescimento *in vitro* são dificultados ou limitados pela liberação de exsudados derivados da oxidação de compostos fenólicos.

As concentrações das soluções desinfestantes, assim como as combinações dos princípios ativos e os tempos de exposição, podem variar consideravelmente. Algumas gotas de detergente são comumente adicionadas às soluções a base de cloro para melhorar o contato destas com os tecidos, a partir da redução da tensão superficial da água, facilitando a ação do tratamento asséptico. Também podem ser utilizados fungicidas e bactericidas durante a desinfestação com a incorporação em baixas concentrações ao meio de cultura de isolamento (Teixeira, 2001). Sato et al. (2001) observaram que o fungicida Benlate® (200 mg L⁻¹) foi eficiente para controlar a contaminação fúngica em explantes de *Celtis* sp. Ferreira et al. (2009) concluíram que a ação do antibiótico cefotaxima (100 mg L⁻¹) juntamente com o hipoclorito de sódio controlou a contaminação de explantes florais de *Theobroma grandiflorum*. A contaminação bacteriana de segmentos nodais de *Cedrela*

fissilis foi controlada pela inclusão ao meio de cultura de estreptomicina e Benlate®, na concentração de 10 mg L⁻¹ e 300 mg L⁻¹, respectivamente (Amaral, 2006).

(3) Manipulação dos explantes

A oxidação dos explantes é outro obstáculo a ser superado durante o estabelecimento *in vitro* de espécies lenhosas (Silva et al., 2007). A oxidação fenólica é altamente dependente do genótipo, da fase de desenvolvimento da planta e da estação do ano (Werner et al., 2009). Os tecidos recém excisados, principalmente das angiospermas, tendem a secretar em elevadas proporções substâncias fenólicas e taninos no meio de cultura, em resposta ao ferimento sofrido, os quais podem modificar a composição do meio de cultivo e a absorção de metabólitos (Andrade et al., 2000), prejudicando o cultivo *in vitro*.

Dentre as alternativas para a redução deste problema recomenda-se a lavagem dos explantes em água corrente previamente à desinfestação, auxiliando na lixiviação dos compostos fenólicos (Grattapaglia & Machado, 1998). Em geral, adiciona-se aos meios de cultura substâncias antioxidantes, como ácido cítrico, ácido ascórbico, polivinilpirrolidone (PVP) e carvão ativado (Werner et al., 2009). A atividade das enzimas no que diz respeito à biossíntese e oxidação de fenóis são aumentadas pela luz, portanto, o escurecimento dos tecidos poderá ser reduzido e até mesmo impedido, caso os explantes sejam incubados no escuro (Melo et al., 2001). A oxidação fenólica tem sido controlada em diferentes espécies lenhosas pela redução da concentração de sais e de reguladores de crescimento no meio de cultura e notadamente pela adição de antioxidantes ao meio (Bassan et al., 2006). Além disso, recomenda-se o subcultivo dos explantes para novo meio de cultura em menor espaço de tempo.

Multiplicação e alongamento

Nesta fase, o principal objetivo é produzir o maior número de gemas ou brotos possíveis, no menor intervalo de tempo e com o mínimo de variação genética entre explantes, além de livres de contaminantes que prejudiquem a micropropagação (Léon, 2010). A qualidade e homogeneidade das partes aéreas produzidas também são importantes, pois influenciam o enraizamento adventício posterior, tanto *in vitro* quanto *ex vitro*.

Alguns fatores afetam o desenvolvimento das culturas durante a fase de multiplicação, como a frequência de subcultivos, o tipo e tamanho dos explantes subcultivados

e os cuidados no procedimento da repicagem (Correia et al., 1995). Um dos principais desafios baseia-se em estabelecer as melhores combinações e os tipos de reguladores de crescimento que proporcionem o crescimento e desenvolvimento adequados dos explantes de espécies lenhosas. Dependendo dos objetivos da micropropagação, deve-se atentar para o tempo e número de subcultivos necessários durante a multiplicação, até alcançar estádios vegetativos com reatividade das gemas, de acordo com os interesses da propagação (Xavier & Otoni, 2009).

A resposta a maior ou menor taxa de multiplicação ou alongamento, normalmente, tem sido estabelecida pelo balanço hormonal dos reguladores de crescimento. O 6-benzilaminopurina (BAP) corresponde à citocinina mais utilizada nos trabalhos de micropropagação de espécies florestais, sendo empregada isoladamente na multiplicação *in vitro* de *Schizolobium amazonicum* (Cordeiro et al., 2004a), *Cabranea canjerana* (Rocha et al., 2007), *Luehea divaricata* (Flôres et al., 2011), *Ocotea porosa* (Pelegri et al., 2011), *Ocotea odorifera* (Moritz et al., 2009), *Cordia trichotoma* (Heberle, 2010) e *Erythrina velutina* (Costa et al., 2010). O BAP também foi utilizado combinado com outras citocininas, como a zeatina (ZEA) e a cinetina (KIN) na micropropagação de *Aspidosperma polyneuron* (Ribas et al., 2005) e com a isopenteniladenina (2-iP) na propagação *in vitro* de *Swietenia macrophylla* (Schottz et al., 2007). Além disso, faz-se o uso da ação combinada de BAP com o ácido naftalenoacético (ANA) (uma auxina sintética), como por exemplo na micropropagação de *Cedrela fissilis* (Amaral, 2006), *Caryocar brasiliense* (Santos et al., 2006), *Aspidosperma ramiflorum* (Hubner et al., 2007) e *Maclura tinctoria* (Gomes et al., 2010).

Os meios de cultura constituem também um fator relevante na micropropagação, uma vez que possuem substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos, controlam o padrão de desenvolvimento e a resposta morfogênica *in vitro* (Caldas et al., 1998), influenciando as respostas morfofisiológicas dos explantes (Almeida et al., 2012). Existe uma grande variedade de meios de cultura adaptados para diversas espécies, diferindo, sobretudo quanto à constituição e concentração de nutrientes (Amaral, 2006). Entretanto, o meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) corresponde a um dos mais utilizados na propagação de espécies florestais nativas, como por exemplo, ao reportado para

Peltophorum dubium (Bassan et al., 2006), *Cedrela fissilis* (Amaral, 2006), *Cabranea canjerana* (Rocha et al., 2007), *Hancornia speciosa* (Lédo et al., 2007), *Ocotea porosa* (Pelegri et al., 2011) e *Schizolobium parayba* var. *amazonicum* (Reis et al., 2009). Além do meio de cultura MS, o meio WPM (*woody plant medium*) (Lloyd & McCown, 1981), desenvolvido especialmente para o cultivo *in vitro* de espécies lenhosas, também é utilizado para muitas espécies florestais. Flôres et al. (2011) concluíram que o meio WPM foi o mais eficiente para a micropropagação de *Luehea divaricata*, bem como Fick et al. (2007) para a propagação *in vitro* de *Cordia trichotoma*.

A inclusão de substâncias adsorventes ao meio de cultura tem sido relatada como uma condição indispensável para o cultivo *in vitro* de espécies lenhosas (Werner et al., 2009; Moritz et al., 2009). São relatados também resultados positivos com a adição de ácido cítrico e ácido ascórbico ao meio de cultura, visando controlar a oxidação para *Schizolobium amazonicum* (Cordeiro et al., 2004b), e com o acréscimo de carvão ativado ao meio de cultura durante a multiplicação de gemas de *Cordia trichotoma* (Heberle, 2010).

O cultivo *in vitro* das espécies florestais por meio da utilização de biorreatores é uma alternativa mais eficiente para a produção de mudas em larga escala com custos reduzidos, semelhante ao desenvolvido para cana-de-açúcar (Mordocco et al., 2009) e banana (Kosky et al., 2006). Embora os sistemas de biorreatores apresentem vantagens em comparação com a micropropagação convencional para algumas espécies vegetais agrônomicas, como abacaxi (Escalona et al., 1999; Silva et al., 2007), banana (Lemos et al., 2001), batata (Teisson & Alvard, 1999), cana-de-açúcar (Lorenzo et al., 1998), essa técnica de propagação ainda não tem sido empregada em grande escala para espécies florestais nativas, tendo sido relatada até o presente momento apenas para *Jacaranda decurrens* (Malosso et al., 2012). Neste trabalho, a taxa de multiplicação dos explantes cultivados no sistema de imersão temporária RITA[®] foi superior à obtida em meio de cultura semi-sólido. Esses resultados indicam que os biorreatores constituem sistemas promissores para a multiplicação em larga escala de espécies florestais nativas, consolidando um campo promissor para o desenvolvimento de futuros trabalhos.

Enraizamento e aclimatização

O enraizamento *in vitro* caracteriza-se pela indução de raízes adventícias em brotações alongadas, a partir de gemas na fase de multiplicação/alongamento, visando à obtenção de plantas completas para posterior transplante e aclimatização para as condições *ex vitro*. De modo geral, os materiais genéticos de espécies lenhosas em idade ontogenética mais avançada apresentam maiores dificuldades para o enraizamento adventício (Mantovani et al., 2010; Almeida et al., 2007). O enraizamento pode ser induzido tanto *in vitro* quanto *ex vitro*. No caso de enraizamento *in vitro*, as raízes são induzidas em meio de cultura sob condições laboratoriais, sendo em última fase, as plantas transplantadas para substratos e acondicionadas em casa de vegetação para a aclimatização. Neste caso, tem-se melhor controle das condições de cultura obtendo-se elevados percentuais de enraizamento (Leitzke et al., 2009).

Em geral, a composição do meio de cultura e o tipo e concentrações de auxina são as variáveis que mais influenciam o enraizamento, sendo as respostas dependentes do material genético. Curti (2011) não obteve sucesso em induzir raízes *in vitro* em brotações de *Peltophorum dubium* na presença das auxinas ANA, ácido indolbutírico (AIB) e ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). De acordo com Fett Neto et al. (1992), em espécies florestais lenhosas, o enraizamento adventício é induzido em meio de cultura com auxina, com a posterior transferência para meio de cultura isento de regulador de crescimento, estimulando, assim, a rizogênese e o crescimento das raízes. Dentre as auxinas, o ácido indolbutírico (AIB) tem sido muito utilizado em razão da baixa fitotoxicidade aos explantes, proporcionando resultados positivos ao enraizamento *in vitro*, como o reportado para *Caryocar brasiliense* (Santos et al., 2006), *Ocotea porosa* (Pelegrini et al., 2011) e *Parapiptadenia rigida* (Kielse, 2009). A adição de outros componentes ao meio de cultura também pode favorecer o enraizamento, como o ácido giberélico (GA₃) na micropropagação de *Cedrela fissilis* (Amaral, 2006) e de carvão ativado no enraizamento de *Maclura tinctoria* (Gomes et al., 2010).

Em relação ao enraizamento *ex vitro*, as brotações alongadas são enraizadas diretamente em substrato. A opção por um dos sistemas depende da qualidade das partes aéreas obtidas na multiplicação da espécie, do genótipo e da infra-estrutura adequada (Santos et al., 2004). De acordo com Wendling et al. (2006) o enraizamento *ex vitro* é mais eficiente, proporcionando

a indução de sistema radicial mais adequado do ponto de vista morfogênico, além de ser mais prático e econômico ao se comparar com o enraizamento *in vitro*.

A auxina AIB tem sido utilizada com frequência para a indução do enraizamento *ex vitro*. Ribas et al. (2005) obtiveram sucesso no enraizamento de *Aspidosperma polyneuron* com a imersão das bases das microestacas em solução de AIB. Da mesma forma, Rocha et al. (2007) enraizaram microestacas de *Cabralea canjerana*, utilizando AIB.

A aclimatização é um dos processos indispensáveis para a obtenção de uma microplanta completa (Wendling et al., 2006). A transferência de brotações ou microplantas das condições assépticas e heterotróficas, típicas na cultura de tecidos, para o crescimento em ambiente externo deve ser realizada gradativa e cuidadosamente. Isso se deve aos explantes apresentarem elevado conteúdo de água condições *in vitro* (Kubota & Kozai, 1992) ou com desordens anatômicas e fisiológicas que não possibilitam que o aparato fotossintético opere normalmente (Arigita et al., 2002). A alta umidade do ar nos frascos de cultura altera a estrutura da cutícula, os depósitos de cera, e as células do mesófilo e dos estômatos das folhas, tornando as plantas suscetíveis a grandes perdas de água por transpiração (Costa et al., 2008). Portanto, o sucesso da aclimatização é dependente do controle de fatores, como temperatura, luminosidade, umidade, substrato e nutrientes.

O processo de aclimatização é realizado com incremento da irradiância, mantendo-se elevada umidade relativa do ambiente após o transplante, seguido de redução da mesma, até que a fase de rustificação se complete (Campostrini & Otoni, 1996). Geralmente, a umidade relativa do ar (UR), em particular no início do processo, é controlada em casa de vegetação a partir da utilização de estrutura coberta com filme plástico (polietileno) e com nebulização frequente em intervalos pré-determinados. Rocha et al. (2007) observaram 90% de sobrevivência em microestacas de *Cabralea canjerana* ao aclimatizá-las em casa de vegetação durante 30 dias. O uso de uma estrutura coberta com sombrite também favorece a aclimatização, conforme relatado por Gomes et al. (2010) com plantas micropropagadas de *Maclura tinctoria*, reportando 97% de sobrevivência.

O substrato é outro fator importante envolvido na aclimatização *ex vitro*, pois ele pode facilitar ou impedir o crescimento das plantas (Skrebsky et al., 2006). As características do substrato como o elevado espaço de aeração associado à elevada capacidade de retenção de

água são fatores fundamentais durante a aclimatização (Girardi & Pescador, 2010). Diversos substratos tem sido utilizados, tais como substratos comerciais para o plantio de hortaliças, fibras de coco, vermiculita ou areia. No entanto, embora o substrato possa ser formado por um único material, dificilmente será encontrado um ideal com todas as características necessárias, sendo utilizada a mistura de dois ou mais materiais.

Organogênese e embriogênese somática

De acordo com Xavier et al. (2013), a organogênese corresponde à indução de gemas adventícias diretamente sobre o explante ou calo (ou seja, organogênese indireta), mediante a desdiferenciação e rediferenciação celular, levando à formação de uma planta completa a partir da atividade meristemática em células maduras diferenciadas. Xavier & Otoni (2009) relataram que o processo de organogênese *in vitro* é considerado complexo, com a atuação de múltiplos fatores externos e internos, envolvendo interação entre fonte de explante, meio de cultura, fatores do ambiente, ação de reguladores de crescimento, em particular auxinas e citocininas, como também da habilidade dos tecidos em responder a mudanças hormonais durante o período de cultivo.

Na área florestal, este sistema de micropropagação tem potencialidade de utilização na conservação de germoplasma *in vitro*, aplicação nos programas de propagação clonal, auxiliando no desenvolvimento de protocolos eficientes de regeneração para diversas espécies, no melhoramento florestal, como também, na obtenção de plantas transgênicas via transformação genética (Xavier et al., 2013). No entanto, diante da escassez de informações referentes à organogênese *in vitro* de espécies florestais nativas, ainda se faz necessária a adequação de protocolos de regeneração visando aplicação na propagação *in vitro*. Dentre os trabalhos publicados via organogênese destacam-se os desenvolvidos para *Hancornia speciosa* (Soares et al., 2007) e *Miconia* sp. (Cid et al., 1997).

A embriogênese somática, embora tenha um enorme potencial de aplicação na área florestal, ainda apresenta poucas pesquisas que envolvam espécies florestais nativas, demonstrando uma carência de estudos com esta técnica. Alguns trabalhos tem sido desenvolvidos com *Araucaria angustifolia* (Astarita & Guerra, 2000; Santos et al., 2002; Silveira et al., 2002), *Hevea brasiliensis* (Sobha et al., 2003), *Acca sellowiana* (Booz

& Pescador, 2007), *Caesalpinia echinata* (Werner et al., 2007), *Myrciaria aureana* (Motoike et al., 2007), *Acrocomia aculeata* (Moura et al., 2008), *Theobroma cacao* (Silva et al., 2009) e *Amburana acreana* (Fermino Junior & Pereira, 2012), demonstrando que essa técnica é promissora para a propagação *in vitro* de espécies nativas, considerando que a sua aplicabilidade deverá ser melhor investigada em futuros trabalhos.

Considerações finais

A micropropagação de espécies florestais nativas apresenta-se com potencial para a conservação de germoplasma *in vitro*, limpeza clonal, produção massiva de mudas de espécies, aceleração de programas de melhoramento pela multiplicação de clones, além de atuar como base para outras técnicas biotecnológicas, como a transformação genética e a produção de metabólitos secundários.

Entretanto, em vista do grande número de espécies florestais, há carência de trabalhos de propagação *in vitro*, os quais têm sido realizados principalmente para o desenvolvimento de protocolos de micropropagação, com pesquisas relacionadas aos meios de cultura, componentes dos meios nutritivos, concentrações de reguladores de crescimento, seleção e desinfestação de explantes. Ainda residem dificuldades relacionadas à micropropagação, como contaminações fúngicas e bacterianas endofíticas, oxidação fenólica e ausência de resposta morfogênica dos explantes.

Diante do exposto, a micropropagação não deve ser visualizada isoladamente, mas sim, como uma ferramenta de complementação das demais técnicas convencionais de propagação seminal e demais sistemas, como biorreatores.

Referências

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2. ed. Viçosa, MG: Ed da UFV, 2009. 500 p.
- ALMEIDA, F. D.; XAVIER, A.; DIAS, J. M. M.; PAIVA, H. N. Eficiência das auxinas (AIB e ANA) no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 31, n. 3, p. 455-463, 2007.
- ALMEIDA, M.; ALMEIDA, C. V.; GRANER, E. M.; BRONDANI, G. E.; ABREU-TARAZI, M. F. Pre-procambial cells are niches for pluripotent and totipotent stem-like cells for organogenesis and somatic embryogenesis in the peach palm: a histological study. **Plant Cell Reports**, New York, v. 31, n. 8, p. 1495-1515, 2012.

- AMARAL, V. F. M. **Multiplicação in vitro de Cedrella fissilis Vell.** 2006. 79 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- ANDRADE, M. W.; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S.; MELO, P. R. A. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 174-180, 2000.
- ARIGITA, L.; GONZÁLEZ, A.; TAMÉS, R. S. Influence of CO₂ and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinidia deliciosa* explants cultured *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 115, p. 166-173, 2002.
- ASTARITA, L. V.; GUERRA, M. P. Conditioning of the culture medium by suspension cells and formation of somatic proembryo in *Araucaria angustifolia* (Coniferae). In **Vitro Cellular Development and Biology Plant**, Wallingford, v. 36, n. 3, p. 194-200, 2000.
- BASSAN, J. S.; REINIGER, L. R. S.; ROCHA, B. H. G.; SEVERO, C. R. P.; FLÓRES, A. V. Oxidação fenólica, tipo de explante e meios de cultura no estabelecimento *in vitro* de canafistula (*Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUB.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 16, n. 4, p. 381-390, 2006.
- BOOZ, M. R.; PESCADOR, R. Efeito do Ácido γ -aminobutírico (Gaba) na Embriogênese Somática de *Acca sellowiana* (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 198-200, 2007.
- BORGES, S. R.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; MELO, L. A.; ROSADO, M. A. Enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 425-434, 2011.
- BRUNETTA, J. M. F. C.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, A. L.; FONSECA, É. P. Calogênese *in vitro* em segmentos de epicótilo de mogno (*Swietenia macrophylla* King) com o uso de 6-benzilaminopurina e ácido α -naftalenoacético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 71, p. 19-24, 2006.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: ABCPT; EMBRAPA-CNPq, 1990. p. 37-70.
- CAMPOSTRINI, E.; OTONI, W. C. Aclimação de mudas: abordagens recentes. **ABCPT Notícias**, Brasília, DF, n. 25, p. 2-12, 1996.
- CID, L. P. B.; GOMES, A. C. M.; COSTA S. B. R.; TEIXEIRA, J. B. Micropropagation of *Miconia sp.*, a woody Melastomataceae from Brazil, using thidiazuron as plant growth regulator. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 9, n. 1, p. 21-25, 1997.
- CID L. P. B.; ZIMMERMANN M. J. **A contaminação in vitro de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 20 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 122).
- CORDEIRO, I. M. C. C.; LAMEIRA, O. A.; OHASHI, S. T.; ROSAL, L. F. Efeito de BAP sobre a proliferação de brotos *in vitro* de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke. **Cerne**, Lavras, v. 10, n. 1, p. 118-124, 2004a.
- CORDEIRO, I. M. C. C.; LAMEIRA, O. A.; MENEZES, I. C.; COSTA, M. P.; REIS, L. R. S. Efeito de diferentes concentrações de nitrato de amônio no controle da oxidação *in vitro* em segmento caulinar de paricá (*Schizolobium amazonicum*) Huber ex (Ducke). **Revista Ciência Agrária**, Belém, n. 41, p. 97-104, 2004b.
- CORREIA, D.; CONÇALVES, A. N.; COUTO, H. T. Z.; RIBEIRO, M. C. Efeito do meio de cultura líquido e sólido no crescimento e desenvolvimento de gemas de *Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla* na multiplicação *in vitro*. **IPEF**, Piracicaba, v. 48, p. 107-116, 1995.
- COSTA, F. H. S.; PEREIRA, J. E. S.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M.; SANTOS, A. M. Perda de água e modificações anatômicas em folhas de plantas de bananeiras micropropagadas durante a aclimatização. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 39, n. 3, p. 742-748, 2008.
- COSTA, G. M.; NEPOMUCENO, C. F.; SANTANA, J. R. F. Propagação *in vitro* de *Erythrina velutina*. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 40, n. 5, p. 1090-1096, 2010.
- COUTO, J. M. F.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, A. L.; FONSECA, E. P. Desinfestação e germinação in vitro de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 28, n. 5, p. 633-642, 2004.
- CURTI, A. R. **Contribuições para a micropropagação de Peltophorum dubium (SPRENGEL) Taubert.** 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- CYSNE, J. R. B. **Propagação in vitro de Moringa oleifera L.** 2006. 81 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- DEBNATH, S. C. Clonal propagation of dwarf raspberry (*Rubus pubescens* Raf.) through *in vitro* axillary shoot proliferation. **Plant Growth Regulation**. Boston, n. 4, v. 3, p. 179-186, 2004.
- DESCHAMPS, C.; PINTO, J. E. B. P. Enraizamento *in vitro* de microestacas e micropropagação de gemas axilares de sarandi (*Sebastiania schottiana* Muell. arg.). **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 25, n. 3, p. 389-393, 1995.
- DIAS, P. C.; OLIVEIRA, L. S.; XAVIER, A.; WENDLING, I. Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 32, p. 72, p. 453-462, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.4336/2012.pfb.32.72.453>
- DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 58, p. 49-59, 2009. DOI: 10.4336/2009.pfb.58.49
- ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Tipo de explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento in vitro de plantas de macieira (*Malus domestica* Borkh.) cvs. Galaxy, Maxigala e Mastergala. **Revista Brasileira Agrocência**, Pelotas, v. 9, n. 3, p. 221-227, 2003.
- ESCALONA, M.; LORENZO, J. C.; GONZÁLEZ, B.; DAQUINTA, M.; GONZÁLEZ, J. L.; DESJARDINS, Y.; BORROTO, C. G. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. **Plant Cell Reports**, New York, v. 18, p. 743-748, 1999.
- FEARNSIDE, P. M. Plantation forestry in Brazil: projections to 2050. **Biomass and Bioenergy**, Kidlington, v. 15, n. 6, p. 437-450, 1998.
- FERMINO JUNIOR, P. C. P.; NAGAO, E. O.; PEREIRA, J. E. S. Estabelecimento, germinação e multiplicação *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.) a partir de genótipos da Amazônia Sul-Occidental. **Scientia Forestales**, Piracicaba, v. 37, n. 84, p.4 27-435, 2009.

- FERMINO JUNIOR, P. C. P.; PEREIRA, J. E. S. Germinação e propagação *in vitro* de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith – Fabaceae). **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 22, n. 1, p. 1-9, 2012.
- FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo: Embrapa Floresta, 2004. 22 p. (Embrapa Florestas. Documentos, 94).
- FERREIRA, M. das G. R.; SANTOS, M. R. A.; BRAGADO, A. C. R. Propagação *in vitro* de cupuaçuzeiro: desinfestação de explantes florais. **Saber Científico**, Porto Velho, v. 2, n. 2, p. 37-44, 2009.
- FETT-NETO, A. G.; TEIXEIRA, S.; SILVA, E. A. M.; SANTANNA, R. Biochemical and morphological changes during *in vitro* rhizogenes in cuttings of *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 140, p. 720-728, 1992.
- FICK, T. A.; BISOGNIN, D. A.; QUADROS, K. M.; HORBACH, M.; REINIGER, L. R. Estabelecimento e crescimento *in vitro* de plântulas de louro-pardo (*Cordia trichotoma*). **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 17, n. 4, p. 343-349, 2007.
- FLÔRES, A. V. REINIGER, L. R. S.; CURTI, A. R.; CUNHA, A. C. M. C. M.; GOLLE, D. P.; BASSAN, J. S. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 21, n. 1, p. 175-182, 2011a.
- FLÔRES, A. V.; REINIGER, L. R. S.; CURTI, A. R.; PAIM, A.; BASSAN, J. S.; CUNHA, A. C. M. C. M. Estabelecimento *in vitro* de *Peltophorum dubium* ((Spreng.) Taub.) em função das concentrações do meio MS. **Cerne**, Lavras, v. 17, n. 4, p. 549-553, 2011b.
- FRANÇA, S. C.; DUARTE, I. B.; MORAES, R. M.; PEREIRA, A. M. S. Micropropagation of *Stryphnodendron polyphyllum* (barbatimão). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 42, p. 291-293, 1995.
- FRANCO, E. T. H.; GAVIOLLI, B.; FERREIRA, A. G. *In vitro* regeneration of *Didymopanax morototoni*. **Brazilian Journal Biology**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 2, p. 455-462, 2006.
- FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.
- GIRARDI, C. G.; PESCADOR, R. Aclimação de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e a relação com carboidratos endógenos. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 62-72, 2010.
- GOLLE, D. P.; REINIGER, L. R. S.; CURTI, A. R.; LEÓN, E. A. B. Estabelecimento e desenvolvimento *in vitro* de *Eugenia involucreta* DC.: influência do tipo de explante e do meio nutritivo. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 22, n. 1, p. 207-214, 2012.
- GOMES, G. A. C.; PAIVA, R.; HERRERA, R. C.; PAIVA, P. D. O. Micropropagation of *Maclura tinctoria* L.: an endangered woody species. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 34, n. 1, p. 25-30, 2010.
- GRATTAPAGLIA D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; EMBRAPA-CNPQ. 1998. p. 183-260.
- HANDA, L.; SAMPAIO, P. DE T. B.; QUISEN, R. Estabelecimento *in vitro* de explantes de pau-rosa (*Aniba rosaedora* Ducke). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 35, n. 1, p. 489-496, 2005.
- HEBERLE, M. **Propagação in vitro e ex vitro de louro-pardo** (*Cordia trichotoma* (Vell.) Arrabida ex Steudel). 2010. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- HORBACH, M. A.; BISOGNIN, D. A.; KIELSE, P. Q.; KENIA M.; FICK, T. A.; Micropropagação de plântulas de erva-mate obtidas de embriões zigóticos. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 41, n. 1, p. 113-119, 2011.
- HUBNER, H. I.; SILVA, L. V. da; CAPATTI, I.; FUMAGALI, E.; SOUTO, E. R.; GONÇALVES, R. A. C.; OLIVEIRA, A. J. B. Multiplicação *in vitro* de *Aspidosperma ramiflorum* Muell. Arg. (Apocynaceae). **Acta Scientiarum. Health Sciences**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 63-66, 2007.
- KIELSE, P.; FRANCO, E. T. H.; PARANHOS, J. T.; LIMA, A. P. S. Regeneração *in vitro* de *Parapiptadenia rigida*. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 39, n. 4, p. 1088-1094, 2009.
- KOSKY, R. G.; BARRANCO, L. A.; PÉREZ, B. C.; DANIELS, D.; VEJA, M. R.; SILVA, M. F. Trueness-to-type and yield components of the banana hybrid cultivar FHIA-18 plants regenerated via somatic embryogenesis in a bioreactor. **Euphytica**, Wageningen, v. 150, n. 2, p. 63–68, 2006.
- KUBOTA, C.; KOZAI, T. Growth and net photosynthetic rate of *Solanum tuberosum in vitro* under forced and natural ventilation. **HortScience**, Alexandria, v. 27, p. 1312-1314, 1992.
- LAMEIRA, O. A.; LOPES, S. C.; NOGUEIRA, R. C.; CORDEIRO, I. M. C. C.; PINTO, J. E. B. P.; REIS, L. R. S. Efeito de diferentes concentrações de reguladores de crescimento sobre a micropropagação de mogno (*Swietenia macrophylla* King) por meio de explantes juvenis. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 1, n. 2, p. 53-58, 2005.
- LARRABURU, E. E.; APOSTOLO, N. M.; LLORENTE, B. E. *In vitro* propagation of pink lapacho: response surface methodology and factorial analysis for optimisation of medium components. **International Journal of Forestry Research**, Cairo, v. 1, p. 1-9, 2012.
- LÉDO, A. da S.; SECA, G. S. V.; BARBOZA, S. B. S. C.; SILVA JUNIOR, J. F. Crescimento inicial de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de germinação *in vitro*. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 989-993, 2007.
- LÉDO, A. S.; SÁ, A. J.; SILVA JUNIOR, J. F.; SILVA, A. V. C.; DINIZ, L. E. C.; LÉDO, C. A. S. Development of *in vitro* propagation and conservation protocols of the native Brazilian mangaba tree. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 918, p. 177-182, 2011.
- LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Meio de cultura, concentração de AIB e tempo de cultivo no enraizamento *in vitro* de amoreira-preta e framboeseira. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 582-587, 2009.
- LEMOES, E. E. P.; FERREIRA, M. S.; ALENCAR, L. M. C.; OLIVEIRA, J. G. L.; MAGALHÃES, V. S. Micropropagação de clones de banana cv. Terra em biorreator de imersão temporária. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, p. 482-487, 2001.

- LEÓN, E. A. B. **Germinação, estabelecimento, regeneração e calogênese in vitro em explantes de açoita cavalo** (Luehea divaricata Mart. & Zucc.). 2010. 61 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, (*Kalmia latifolia*), by use of shoot tip culture. **Combined Proceedings: International Plant Propagator's Society**, n. 30, p. 421-427, 1981.
- LORENZO, J. C.; GONZALES, B.; ESCALONA, M.; TEISSON, C.; ESPINOSA, P.; BORROTO, C. G. Sugar cane shoot formation in an improved temporary immersion system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 54, n. 3, p. 197-200, 1998.
- MALOSSO, M. G.; BERTONI, B. W.; COPPEDE, J. S.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Micropropagation and *in vitro* conservation of *Jacaranda decurrens* Cham. **Journal of Medicinal Plants Research**, Nairobi, v. 6, n. 7, p. 1147-1154, 2012.
- MANTOVANI, N. C.; FRANCO, E. T. H.; VESTENA, S. Regeneração *in vitro* de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel). **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 11, n. 2, p. 93-101, 2001.
- MANTOVANI, N. C.; GRANDO, M. F.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Resgate vegetativo por alporquia de genótipos adultos de urucum (*Bixa orellana* L.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 20, n. 3, p.403-410, 2010.
- MARUYAMA, E.; ISHII, K.; KINOSHITA, I.; OHBA, K.; SAITO, A. Micropropagation of bolaina blanca (*Guazuma crinita* Mart.), a fast-growing tree in Amazon region. **Journal Forest Research**, Ottawa, v. 1, n. 4, p. 211-217, 1996.
- MARUYAMA, E.; ISHII, K.; KINOSHITA, I.; OHBA, K.; SAITO, A. Micropropagation of *Guazuma crinita* mart. by root and petiole culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology: Plant*, Wallingford, v. 33, n. 2, p. 131-135, 1997.
- MELO, B. Diferentes antioxidantes no controle da oxidação, germinação e desenvolvimento de plântulas na cultura *in vitro* de embriões da guarirobeira *Syagrus oleracea* (MART.) BECC. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 25, n. 6, p. 1301-1306, 2001.
- MORDOCCO, A. M.; BRUMBLEY, J. A.; LAKSHMANAN, P. Development of a temporary immersion system (RITA[®]) for mass production of sugarcane (*Saccharum* spp. interspecific hybrids). *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, Wallingford, v. 45, n. 4, p. 450-457, 2009.
- MORITZ, A.; DEGENHARDT, J.; DUTRA, L. F.; HANSEL, F. A.; LIMA, B. H. de; FRANCESCHI, C. do R. B.; FRANCISCON, L. Estabelecimento *in vitro* de *Ocotea odorifera*, *O. catharinensis* e *O. porosa*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 59, p. 37-44, 2009. DOI: 10.4336/2009.pfb.59.37
- MOTOIKE, S. Y.; SARAIVA, E. S.; VENTRELLA, M. C.; SILVA, C. V.; SALOMÃO, L. C. C. Somatic embryogenesis of *Myrciaria aureana* (Brazilian grape tree). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. Dordrecht, v. 89, p. 75-81. 2007.
- MOURA, E. F.; VENTRELLA, M. C.; MOTOIKE, S. Y.; SÁ JÚNIOR, A. Q.; CARVALHO, M.; MANFIO, C. E. Histological study of somatic embryogenesis induction on zygotic embryos of macaw palm (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Martius). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 95, p. 175-184. 2008.
- MOURA, L. C.; TITON, M.; MIRANDA, N. A.; MOREIRA, T. P.; OLIVEIRA M. L. R. Multiplicação e Alongamento *in vitro* de vinhático (*Plathymenia reticulata*). **Scientia Forestales**, Piracicaba, v. 40, n. 96, p. 499-505, 2012.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NASCIMENTO, A. C.; PAIVA, R.; ABBADE, L. C.; VARGAS, D. P.; SOARES, F. P. Micropropagação de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess): efeitos do BAP e AIB. **Revista Verde**, Mossoró, v. 3, n. 2, p. 20-26. 2008a.
- NASCIMENTO, A. C.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; PORTO, J. M. P.; NOGUEIRA, G. F.; SOARES, F. P.; BAP e AIB no cultivo *in vitro* de *Eugenia pyriformis* Cambess. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 6, n. 2, p. 223-228. 2008b.
- NASCIMENTO, P. K. V. do. **Regeneração in vitro de Parapiptadenia rigida (Benth) Brenan**. 2008. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- NEPOMUCENO, C. F.; SOUZA, A. P. de; QUEIROZ, S. R. O. D.; PELACANI, C. R.; SANTANA, J. R. F. de. Respostas morfofisiológicas *in vitro* de plântulas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb) Altschul. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 481-490, 2009.
- NOLETO, L. G.; SILVEIRA, C. E. S. Micropropagação de Copaíba. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, DF, v. 33, p. 109-120, 2004.
- NUNES, E. C.; CASTILHO, C. V.; MORENO, F. N.; VIANA, A. M. *In vitro* culture of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 70, n. 3, p. 259-268, 2002.
- NUNES, G. P.; SILVA, M. F.; RESENDE, U. M.; SIQUEIRA, J. M. Plantas medicinais comercializadas por raizeiros no centro de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 13, n. 2, p. 18-27, 2003.
- OLIVEIRA, F. F. M.; SILVA, K. M. B.; OLIVEIRA, G. F. de; DANTAS, I. M.; CAMACHO, G. V. Micropropagação de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. a partir de segmentos nodais e ápices caulinares. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 3, p. 152-159, 2007.
- PELEGRINI, L. L.; RIBAS, L. L. F.; ZANETTE, F.; KOEHLER, H. S. Micropropagation of *Ocotea porosa* (Nees & Martius) Barroso. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 10, n. 9, p. 1527-1523, 2011.
- PINTO, F. **Calogênese e indução de gemas axilares em mogno** (*Swietenia macrophylla* King). 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- PLANO Nacional de Silvicultura com Espécies Nativas e Sistemas Agroflorestais: PENSAF. Brasília, DF: MMA; MAPA; MDA; MCT, 2006. 38 p.

- REIS, I. N. R. S.; LAMEIRA, O. A.; CORDEIRO, I. M. C. C.; CASTRO, C. V. B.; CARNEIRO, A. G. Cultivo in vitro de eixos embrionários de paricá. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 60-66, 2009.
- RIBAS, L. L. F.; ZANETTE, F.; KULCHETSCKI, L.; GUERRA, M. P. Micropropagação de *Aspidosperma polyneuron* (peroba-rosa) a partir de segmentos nodais de mudas juvenis. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 29, n. 4, p. 517-524, 2005.
- ROCHA, S. C.; QUOIRIN, M. Calogênese e rizogênese em explante de mogno (*Swietenia macrophylla* King) cultivados in vitro. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 14, n. 1, p. 91-101, 2004.
- ROCHA, S. C. da; QUORIM, M.; RIBAS, L. L. F.; KOEHLER, H. S. Micropropagação de *Cabralea canjerana*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 31, n. 1, p. 43-50, 2007.
- SÁ, A. J. **Avanços na propagação e conservação in vitro da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) nativa da região nordeste**. 2009. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agrossistemas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.
- SÁ, A. J.; LÉDO, A. S.; LÉDO, C. A. S.; PASQUAL, M.; SILVA, A. V. C.; JUNIOR, J. F. S.; Sealing and explant types on the mangaba micropropagation. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 36, n. 4, p. 406-414, 2012.
- SALDANHA, A. L. M. **Protocolo para a propagação in vitro de cedro (*Cedrela odorata* L.)**. 2010, 56 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, PA.
- SANTOS, A. L. W.; SILVEIRA, V.; STEINER, N.; VIDOR, M.; GUERRA, M. P. Somatic embryogenesis in parana pine (*Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 45, n. 1, p. 97-106, 2002.
- SANTOS, D. C.; WENDLING, I.; GROSSI, F. **Efeito de diferentes combinações de fitorreguladores e vitaminas no desenvolvimento in vitro e ex vitro de *Grevillea robusta* Cunn.** Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 6 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 122).
- SANTOS, B. R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, D. P. C.; MARTINOTTO, C.; SOARES, F. P.; PAIVA, P. D. O. Micropropagação de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 293-296, 2006.
- SANTOS-SEREJO, J. A.; JUNGHANS, T. G.; SOARES, T. L.; SILVA, K. M. Meios nutritivos para micropropagação de plantas. In: SOUSA, A. S.; JUNGHANS, T. G. **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. p. 79-98.
- SANTOS, D. C.; WENDLING, I. Avaliação de meios de cultura e métodos de desinfestação de explantes de plantas adultas de ervamate. **Revista de Biologia e Farmácia**, Campina Grande, v. 4, n. 2, p. 34-42, 2010.
- SANTOS, J. P.; DAVIDE A. C.; TEIXEIRA, L. A. F.; MELO, A. J. S.; MELO, L. A. Enraizamento de estacas lenhosas de espécies florestais. **Cerne**, Lavras, v. 17, n. 3, p. 293-301, 2011.
- SARTOR, F. R.; ZANOTTI, R. F.; PÔSSA, K. F.; PILON, A. M.; FUKUSHIMA, C. H. Diferentes meios de cultura e antioxidantes no estabelecimento in vitro do jacarandá da Bahia. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 408-411, 2013.
- SATO, A., Y.; DIAS, H. C. T.; ANDRADE, L. A. de; SOUZA, V. C. de. Micropropagação de *Celtis* sp: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, Lavras, v. 7, n. 2, p. 117-123, 2001.
- SCHOTTZ, E. S.; KALIL FILHO, A. N.; TRACZ, A. L.; KOEHLER, H.; RIBAS L. L. F.; QUOIRIN M. Multiplicação in vitro de *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae) a partir de material juvenil. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 17, n. 2, p. 109-117, 2007.
- SERVIÇO FLORESTAL BRASILEIRO. **Sistema Nacional de Informações Florestais**: espécies florestais. Disponível em: <http://www.florestal.gov.br/snif/recursos-florestais/especies-florestais>. Acesso em: 07 jul. 2012.
- SHIMIZU, J. Y. Estratégia complementar para conservação de espécies florestais ativas: resgate e conservação de ecótipos ameaçados. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 54, p. 7-35, 2007.
- SILVA, J. M. O. D.; OLTRAMARI, A. C.; MARASCHIN, M. PEDROTTI, E. Cultura de embriões imaturos e organogênese: aspectos biotecnológicos da canela sassafrás. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**. Brasília, DF, n. 20, p. 44-48, 2001.
- SILVA, J. A.; LEITE, E. J.; SALOMÃO, A. N.; SANTOS, I. R. I. **Banco de germoplasma de espécies florestais nativas do campo experimental Sucupira. Mogno (*Swietenia macrophylla* King) Meliaceae**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 50 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 122).
- SILVA, L. C.; SCHUCH, M. W.; SOUZA, J. A.; ERIG, A. C.; ANTUNES, L. E. C. Efeito da iluminação e pré-lavagem das brotações de mirtilo cv. Florida no estabelecimento in vitro. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 1, p. 127-129, 2007.
- SILVA, T. E. R.; CIDADE, L. C.; ALVIM, F. C.; CASCARDO, J. C. M.; COSTA, M. G. C. Studies on genetic transformation of *Theobroma cacao* L.: evaluation of different polyamines and antibiotics on somatic embryogenesis and the efficiency of uidA gene transfer by *Agrobacterium tumefaciens*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Martinus Nijhoff, v. 99, p. 287-298, 2009.
- SILVA, T. S. **Morfogênese e conservação in vitro de *Caesalpinia pyramidalis* Tul.** 2012. 88 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- SILVEIRA, V.; STEINER, N.; SANTOS, A. L. W.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Biotechnology tolls in *Araucaria angustifolia* conservation and improvement: inductive factors affecting somatic embryogenesis. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 2, n. 3, p. 463-470, 2002.
- SKREBSKY, E. C.; NICOLOSO, F. T.; MALDANE, J. Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen produzida in vitro sob diferentes doses de sacarose. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 36, n. 5, p. 1416-1423, 2006.
- SOARES, F. P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A. A.; NOGUEIRA, R. C.; EMRICH, E. B.; MARTINOTTO, C. Organogênese direta em explantes caulinares de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1048-1053, 2007.

- SOBHA, S.; SUSHAMAKUMARI, S.; THANSEEM, I.; JAYASREE, P. K.; REKHA, K.; JAYASHREE, R.; KALA, R. G.; ASOKAN, M. P.; SETHURAJ, M. R.; DANDEKAR, A. M.; THULASEEDHARAN, A. Genetic transformation of *Hevea brasiliensis* with the gene coding for superoxide dismutase with FMV 34S promoter. **Current Science**, New York, v. 85, n. 12, p. 1767-1774, 2003.
- SOBROSA, R. C.; CORDER, M. P. M. Efeito do genótipo sobre o potencial para produção de gemas e raízes adventícias em *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden *in vitro*. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 10, n. 1, p. 58-68, 2003.
- SOUSA, V. A.; AGUIAR, A. V. Programa de melhoramento genético de araucária da Embrapa Florestas: situação atual e perspectivas. Colombo: Embrapa Florestas, 2012. 40 p. (Embrapa Florestas. Documentos, 237).
- SOUZA, A. V.; PEREIRA, A. M. S. Enraizamento de plantas cultivadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 4, p. 103-117, 2007.
- SOUZA, L. S.; FIOR, C. S.; SOUZA, P. V. D.; SCHWARZ, S. F. Desinfestação de sementes e multiplicação *in vitro* de guabijuzeiro a partir de segmentos apicais juvenis (*Myrcianthes pungens* O.Berg) D. Legend. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 3, p. 691-697, 2011.
- TEISSON, C.; ALVARD, D. *In vitro* production of potato microtubers in liquid medium using temporary immersion. **Potato Research**, Dordrecht, v. 42, n. 3, p. 499-504, 1999.
- TEIXEIRA, D. A. **Promoção de enraizamento e indução de resistência sistêmica à ferrugem (Puccinia psidii) e à mancha de Cylindrocladium candelabrum mediadas por rizobactérias em Eucalyptus spp.** 2001. 67 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- TEIXEIRA, J. B. Biorreatores. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, DF, v. 24, p. 36-41, 2002.
- VIANI, R. A. G.; RODRIGUES, R. R. Sobrevivência em viveiro de mudas de espécies nativas retiradas da regeneração natural de remanescente florestal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 8, p. 1067-1075, 2007.
- VILLA, F.; PASQUAL, M.; ASSIS, F. A.; ASSIS, G. A.; ZÁRRAGA, D. Z. A. Micropropagação de duas espécies frutíferas, em meio de cultura DSD1, modificado com fontes de boro e zinco. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 468-472, 2009.
- WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. **Produção de mudas de espécies lenhosas**. Colombo: Embrapa Florestas. 2006. 54 p. (Embrapa Florestas. Documentos, 130).
- WENDLING, I.; BRONDANI, G. E.; BIASIO, A.; DUTRA, L. F. Vegetative propagation of adult *Ilex paraguayensis* trees through epicormic shoots. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 1, p. 117-125, 2013.
- WERNER, E. T.; PESSOTTI, K. V.; LOPES F. P.; CUZZUOL, G. R. F. Indução da calogênese de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil) *in vitro*. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 1053-1055, jul. 2007.
- WERNER, E. T.; CUZZUOL, G. R. F.; PESSOTTI, KAMILA, V.; LOPES, F. P.; ROGER, J. A. Controle da calogênese do pau-brasil *in vitro*. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 6, p. 987-996, 2009.
- XAVIER A.; WENDLING L.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. 2. ed. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2013. 279 p.
- XAVIER, A.; OTONI, W. C.; Aplicações da micropropagação na clonagem de *Eucalyptus* no Brasil. **Agronomía Costarricense**, San José, v. 33, n. 2, p. 303-307, 2009.
- YAMAZAKI, T.; OYANAGI, H.; FUJIWARA, T.; FUKUMORI, Y. Nitrite reductase from the magnetotactic bacterium *Magnetospirillum magnetotacticum*: a novel cytochrome-cd(1) with Fe(II)-nitrite oxidoreductase activity. **European Journal Biochemistry**, Berlim, v. 233, n. 2, p. 665-671, 1995.

