



Ciência Rural

ISSN: 0103-8478

cienciarural@mail.ufsm.br

Universidade Federal de Santa Maria

Brasil

Anselmini, Justina Inês; Zanette, Flávio
Microenxertia e sua caracterização morfológica em Araucaria angustifolia
Ciência Rural, vol. 38, núm. 4, julio, 2008, pp. 967-973
Universidade Federal de Santa Maria
Santa Maria, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33113630010>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe , Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Microenxertia e sua caracterização morfológica em *Araucaria angustifolia*

Micrografting morphological characterization in *Araucaria angustifolia*

Justina Inês Anselmini^I Flávio Zanette^{II}

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar a melhor técnica para microenxertia em *Araucaria angustifolia*. Para isto, foram realizadas auto-enxertia em plantas germinadas in vitro, com 2, 6 e 12 meses de idade. Foram testados dois locais de enxertia no porta-enxerto: caule e hipocótilo, e dois tipos de enxertia: garfagem de topo com e sem fenda. A maior porcentagem de microenxertos com fenda aberta ocorreu nas microenxertia realizadas no hipocótilo. As maiores porcentagens de microenxertos sobreviventes foram obtidas nas microenxertia realizadas no caule, e o tipo de enxertia mais eficiente foi a garfagem de topo sem fenda. A presença de calo aparente foi resultado da interação dos três fatores testados, com maior presença de calo nas enxertia realizadas no hipocótilo. O crescimento dos microenxertos indicou o restabelecimento das conexões vasculares. O maior crescimento dos microenxertos foi obtido nas enxertia realizadas no caule em porta-enxertos de 6 meses com a garfagem de topo. As metodologias testadas permitem concluir que o processo de microenxertia em *Araucaria angustifolia* é eficiente e factível, podendo ser utilizado para a produção de mudas microenxertadas.

Palavras-chave: pinheiro-do-paraná, biotecnologia, micropropagação, cultura de tecidos.

ABSTRACT

The objective of this research was to determine a more efficient way of micrografting in vitro *Araucaria angustifolia* plants. Autografting was performed onto 2, 6- and 12-month-old in vitro germinated plants. Two different graft types (saddle with or without slit) were performed on two different plant parts (stem or hypocotyl). Higher percentage of open slit micrografts was observed when micrografting was performed onto hypocotyls. Higher percentage of surviving micrografts was obtained when micrografting was performed on stem; the saddle without slit technique was the most efficient. Callus

formation resulted from the combination of the three tested factors. However, more visible calluses were present in micrograftings performed on hypocotyls. Growth of the micrograftings was an indication of vascular connection recovering. Better growth was observed when micrograftings were slit saddled onto 6-month-old stems. The methodology tested herein allowed us to conclude that the micrografting process is effective and efficient and may be used for production of *Araucaria angustifolia* micrografted plants.

Key words: parana-pine, biotechnology, micropropagation, tissue culture.

INTRODUÇÃO

Dentre as várias técnicas de propagação vegetativa *in vitro* e *ex vitro*, a estaquia (IRITANI, 1981), a enxertia (IRITANI, 1997) e técnicas de cultura de tecidos (ZANETTE et al., 1987; SANTOS et al., 2002) foram as mais utilizadas para a *Araucaria angustifolia*, na tentativa de desenvolver um protocolo eficiente para a produção de mudas da espécie.

Apesar de a enxertia ser considerada uma técnica de propagação vegetativa viável para a araucária, alguns fatores têm influenciado negativamente o seu êxito, como o plagiotropismo característico da espécie e a diferença entre os diâmetros do porta-enxerto e do enxerto, a sensibilidade das gemas às altas temperaturas e a baixa umidade relativa, e o grau de lignificação das mudas (IRITANI, 1997).

Neste sentido, a microenxertia é utilizada para superar dificuldades apresentadas em frutíferas e

^IPrograma de Pós-graduação em Agronomia, Produção Vegetal, Universidade Federal do Paraná (UFPR). Rua dos Funcionários 1540, CP 19061, Juvevê, 80035-050, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: justinaines@pop.com.br. Autor para correspondência.

^{II}Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, UFPR, Curitiba, PR, Brasil.

essências florestais na regeneração de ápices caulinares (PAZ & PASQUAL, 1998). Essa técnica é também utilizada para a obtenção de plantas livres de viroses (PAZ & PASQUAL, 1998; PASQUAL, 2001), possibilitando a produção de matrizes de fruteiras com alta qualidade fitossanitária e com características adultas (PAZ & PASQUAL, 1998). É também uma técnica promissora para detecção precoce de reação de incompatibilidade entre as duas partes enxertadas (HARTMANN et al., 1997).

A enxertia é a união de tecidos de um mesmo indivíduo (autoenxertia), ou de indivíduos diferentes pertencentes à mesma espécie (homoenxertia) ou não (heteroenxertia), e a primeira condição para que esta união seja satisfatória é a compatibilidade entre as partes. Os primeiros sintomas de incompatibilidade entre o enxerto e o porta-enxerto são a fraca união das partes, a murcha e senescência das folhas, o colapso dos tubos crivados e a consequente morte do enxerto (CARVALHO, 2002).

Outras causas do não-pegamento de um enxerto estão na época do ano e na técnica inadequadas. A perfeita união das camadas cambiais das duas partes enxertadas é uma condição fundamental para o êxito da enxertia, por isso a importância de determinar a técnica mais apropriada para a enxertia (CARVALHO, 2002).

O objetivo deste trabalho foi estudar uma boa técnica para microenxertia em *Araucaria angustifolia*, para possibilitar a clonagem de material adulto com genótipos superiores, visando à formação de pomares clonais para produção de sementes de qualidade ou para reflorestamentos uniformes.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Micropopulação de Plantas do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, nos anos de 2005 e 2006. Os porta-enxertos de *Araucaria angustifolia* utilizados nos experimentos foram obtidos da germinação *in vitro* de embriões, e mantidos por 2, 6 e 12 meses nesta condição.

As sementes utilizadas foram coletadas de uma planta adulta com mais de 20 anos, plantada e situada no setor de Ciências Agrárias da UFPR. A assepsia das sementes foi realizada com a imersão dos pinhões, sem o tegumento, por cinco minutos em etanol (70%) e hipoclorito de sódio (6%) por 40 minutos, seguida de três lavagens em água destilada e autoclavada em câmara de fluxo laminar. O endosperma foi retirado em câmara de fluxo laminar com auxílio de pinças e bisturi e os embriões foram lavados em água

destilada e autoclavada e secados sobre papel absorvente autoclavado. Em seguida, os embriões foram inoculados individualmente em tubos de ensaio, contendo 10 mL de meio WPM (LLOYD & McCOWN, 1980) acrescido de sacarose (20g L⁻¹), ágar (6g L⁻¹) e carvão ativado (1g L⁻¹). Os tubos de ensaio foram transferidos para sala de crescimento sob regime de 16 horas de fotoperíodo, em temperatura controlada de 25±1°C, e radiação luminosa de 24,3mmol² s⁻¹, fornecida por lâmpadas fluorescentes tipo “luz branca”.

Os explantes utilizados como enxertos foram obtidos dos ápices das próprias plantas germinadas *in vitro*. A parte apical das plantas foi retirada e o tamanho do microenxerto foi padronizado em 5mm. Portanto, os porta-enxertos foram microenxertados com seus próprios ápices (auto-enxertia). A microenxertia foi realizada através de um corte em fenda simples (garfagem de topo em fenda cheia) e um corte horizontal (garfagem de topo sem fenda). Os cortes foram feitos 5mm abaixo ou acima da região de inserção hipocótilo-caule.

Os microenxertos foram inoculados em tubos de ensaio com 15mL de meio de cultura WPM contendo sacarose (20g L⁻¹), ágar (6g L⁻¹) e carvão ativado (1g L⁻¹) e mantidos em sala de crescimento nas condições de cultivo descritas anteriormente para a obtenção dos porta-enxertos.

Após 60 dias de cultivo *in vitro*, foram realizadas as seguintes avaliações: porcentagem de microenxertos com abertura da fenda, porcentagem de microenxertos mortos, porcentagem de microenxertos vivos com presença de calo aparente. Após 90 dias de cultura, foi avaliado o crescimento dos microenxertos.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições e cinco microenxertas por repetição. Os tratamentos foram arranjados num fatorial de 3X2X2, sendo três idades de porta-enxertos (dois, seis e 12 meses), dois locais de enxerto: caule e hipocôtilo, e dois tipos de enxertia: garfagem de topo (fenda cheia) e garfagem de topo sem fenda. Foi realizada a análise de variância e comparação de médias pelo Teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Para a caracterização morfológica dos microenxertos, foi realizado um outro experimento na mesma época, onde foram utilizados os mesmos tratamentos: dois locais de enxerto: caule e hipocôtilo, e dois tipos de enxertia: garfagem de topo (fenda cheia) e garfagem de topo sem fenda em plantas germinadas *in vitro*, com 12 meses de idade. Para cada tratamento, foram feitas nove microenxertas e, a cada 30 dias, foram retiradas três plantas microenxertadas, num total de três coletas.

As amostras coletadas foram fixadas imediatamente em FAA (solução de formaldeído, ácido acético glacial e etanol (50%), nas proporções de 5:5:90),

segundo JOHANSEN (1940). Após 48 horas na solução de FAA, as amostras foram colocadas em etanol 70% até o momento da infiltração, quando foram desidratadas em etanol e processadas segundo as técnicas de FEDER & O'BRIEN (1968) para inclusão em meta-acrilatoglicol, segundo as recomendações do fabricante (JB4 – Poliscience^a). As secções seriadas, com 5 µm de espessura, foram obtidas em micrótomo de rotação, distendidas sobre lâminas histológicas e secadas em temperatura ambiente. As lâminas foram coradas em solução aquosa de azul de toluidina (0,5%). A montagem das lâminas foi feita com lamíbulas e resina sintética (Entelan^b).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Nos tratamentos com garfagem de topo em fenda cheia, as médias obtidas para os microenxertos com fenda aberta mostraram uma diferença estatisticamente significativa entre o hipocôtilo e o caule, com 4,44% de microenxertos com fenda aberta no caule e 37,8% no hipocôtilo dos porta-enxertos. A presença de fenda aberta está diretamente relacionada com a não-sobrevivência dos microenxertos, pois impedem o contato entre as duas partes e o restabelecimento da conexão dos vasos condutores (Figura 1A). A inviabilidade dos enxertos também pode ocorrer pelo deslocamento do enxerto sobre o porta-enxerto, com o desemparelhamento dos tecidos vasculares entre as duas partes (NUNES et al., 2005).

O hipocôtilo foi testado como órgão para microenxertia por apresentar um diâmetro uniforme e maior que os caules dos porta-enxertos de *Araucaria angustifolia* testados. O hipocôtilo forma, junto com a radícula, a região adaxial do embrião da araucária, que se caracteriza como uma região cilíndrica e de diâmetro uniforme, onde estão inseridos os dois cotilédones (HERTEL, 1980).

A maior porcentagem de microenxertos com fenda aberta no hipocôtilo pode estar relacionada à sua estrutura, sendo que alguns autores não consideram que o hipocôtilo possua estrutura radicular, caulinar ou de órgão composto parcialmente de raiz e caule. Para SOUZA & OLIVEIRA (2004), foi adotado na descrição do hipocôtilo de *Tabebuia avellanedae* e *T. chrysotricha* o conceito de região de transição. Isto também é aceito por anatomistas, como ESAU (1985), que ressalta que a região do hipocôtilo representa uma conexão, sendo um órgão intermediário entre a raiz e o caule.

A porcentagem de microenxertos sobreviventes mostrou uma interação significativa entre os fatores: idade dos porta-enxertos e tipo de enxertia, e interação entre local do microenxerto e tipo de enxertia (Tabela 1). Para o fator idade dos porta-

enxertos, nas plantas com 6 e 12 meses, não houve diferença significativa entre a porcentagem de microenxertos sobreviventes para os dois tipos de enxertia, mas para os porta-enxertos com dois meses a garfagem de topo sem fenda foi mais eficiente, não apresentando microenxertos mortos (Tabela 1). Em relação ao tipo de enxertia, na garfagem de topo sem fenda, os resultados foram semelhantes estatisticamente; já na garfagem de topo em fenda cheia, os porta-enxertos com 12 meses apresentaram maior porcentagem de microenxertos sobreviventes que os porta-enxertos com dois e seis meses.

O local do microenxerto causou diferenças significativas quando realizadas no hipocôtilo, com a garfagem de topo sem fenda sendo mais eficiente quanto à sobrevivência dos microenxertos (Tabela 1). A garfagem de topo sem fenda não apresentou diferenças entre o caule e o hipocôtilo; entretanto, para a garfagem de topo em fenda cheia, aquelas realizadas no caule apresentaram maior média de microenxertos sobreviventes em relação àquelas realizadas no hipocôtilo.

As porcentagens de microenxertos sobreviventes foram boas quando comparadas com outros dados obtidos em trabalhos com macieira, nos quais NUNES et al. (2005) obtiveram uma porcentagem de sobrevivência de até 93% para a cultivar “Gala” microenxertada sobre “M9” e de 86% para “Gala” microenxertada sobre “Marubakaido”. Em *citrus*, a microenxertia com brotações regeneradas *in vitro* apresenta 100% de pegamento (SILVA et al., 2005).

A sobrevivência dos microenxertos comprova a capacidade organogenética dos tecidos para a regeneração e indica que esta técnica é viável e que pode ser utilizada na produção de mudas microenxertadas para a espécie, abrindo perspectivas para a produção de mudas de alta qualidade a partir de microenxertias com ápices de plantas adultas.

A porcentagem de microenxertos vivos com calo aparente na região da enxertia (Figura 1B), apresentou uma interação significativa entre os três fatores, idade dos porta-enxertos, local e tipo da enxertia (Tabela 2). Para os porta-enxertos com dois meses, quando a microenxertia foi realizada no caule, a porcentagem de calo aparente foi maior para a garfagem de topo em fenda cheia. O inverso ocorreu para as microenxertias realizadas no hipocôtilo, com 100% dos microenxertos com calo aparente na garfagem de topo sem fenda. Quanto ao tipo de enxertia, na garfagem de topo em fenda cheia, não houve diferenças significativas entre o enxerto no caule e no hipocôtilo; já para a garfagem de topo sem fenda, o caule apresentou uma média de microenxertos com calo inferior em relação ao hipocôtilo.

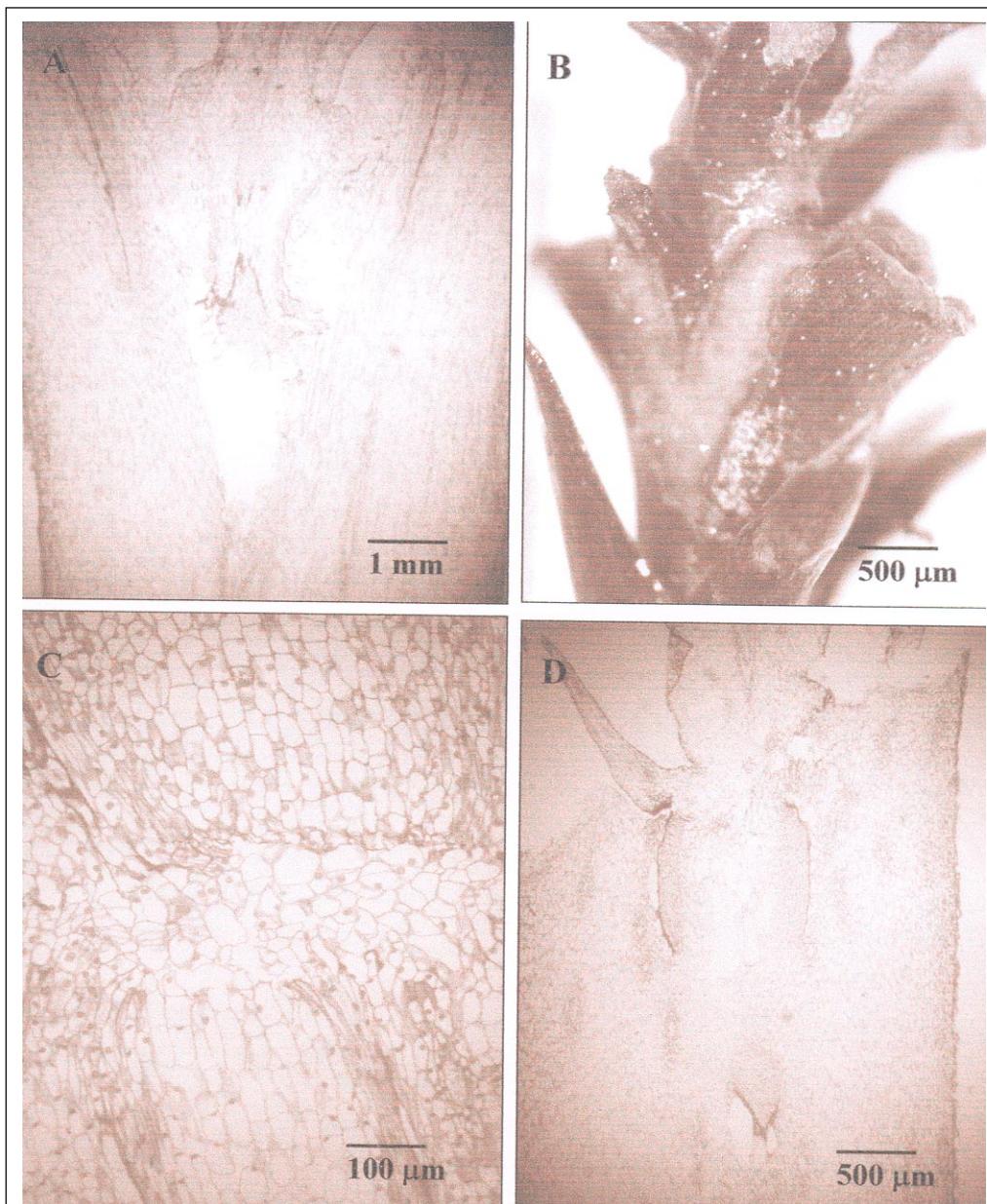


Figura 1 - Microenxertia em *Araucaria angustifolia*; A) Garfagem de topo no hipocôtilo, a fenda aberta dificulta a conexão entre os tecidos do microenxerto e do porta-enxerto, 30 dias após a microenxertia; B) Garfagem do topo (fenda cheia) no caule, presença de calo indicando a soldadura entre as partes enxertadas, 60 dias após a microenxertia; C) interface microenxerto e porta-enxerto, garfagem de topo sem fenda, com desenvolvimento de tecido meristemático caracterizando o processo de soldura entre as partes, 30 dias após a microenxertia; D) garfagem de topo (fenda cheia) no hipocôtilo, com a proliferação do tecido cambial do microenxerto, 90 dias após a microenxertia.

Nos porta-enxertos com seis meses de idade, não houve diferença entre os tipos de enxertia realizadas no caule; mas, para as realizadas no hipocôtilo, a garfagem de topo em fenda cheia apresentou uma média significativamente superior de microenxertos com calo que a garfagem de topo sem fenda (Tabela 2).

Nos porta-enxertos com 12 meses, não houve diferença entre os dois tipos de enxertia quando realizadas no hipocôtilo; no entanto, no caule, a enxertia por garfagem de topo sem fenda apresentou menor porcentagem de calo. Para o tipo de enxertia, apenas a garfagem de topo sem fenda apresentou diferenças

Tabela 1 - Porcentagem de microenxertos sobreviventes em *Araucaria angustifolia*.

Idade do porta-enxerto (meses)	Tipo de enxertia	
	Garfagem de topo em fenda cheia (%)	Garfagem de topo sem fenda (%)
2	76,7 B b	100,0 A a
6	73,4 A b	86,7 A a
12	96,7 A a	86,7 A a
Local do microenxerto	Garfagem de topo em fenda cheia (%)	Garfagem de topo sem fenda (%)
Caule	93,4 A a	88,9 A a
Hipocôtilo	71,1 B b	93,3 A a
CV (%)		79

Médias não seguidas de mesma letra maiúscula na linha e mesma letra minúscula na coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

significativas, com maior porcentagem de calo nos microenxertos realizados no hipocôtilo.

Os dados permitem visualizar que, de um modo geral, a porcentagem de calo aparente formado foi maior nas microenxertas realizadas no hipocôtilo, indicando uma diferença na sua estrutura, que, conforme PILATI & SOUZA (2006), mesmo em fase mais adiantada de crescimento secundário uma medula parenquimática é mantida.

A formação de calo indica a proliferação celular, com potencialidade para gerar novos elementos vasculares, que possibilitam a conexão vascular entre o enxerto e o porta-enxerto. NUNES et al. (2005) também constataram a formação de calo em microenxertas realizadas com variedades de porta-enxerto e copa de macieira.

Após a microenxertia, ocorreu a formação de camadas de células parenquimáticas que preencheram o local do microenxerto (Figura 1C) e a diferenciação de algumas destas células em novas células cambiais, que restabeleceram a conexão cambial entre os tecidos (Figura 1D). Estas observações estão de acordo com as de ABREU & PEDROTTI (2003), que

observaram em macieira o restabelecimento das conexões cambiais e o consequente crescimento do enxerto 30 dias após a microenxertia. ABREU et al. (2003) observaram na mesma espécie, 30 dias após a microenxertia, células meristemáticas cambiais na copa próximas à interface do enxerto, penetrando no porta-enxerto. Algumas destas células ainda eram indiferenciadas e outras já se caracterizavam como parenquimáticas ou vasculares jovens.

O crescimento do enxerto indica o sucesso da enxertia. A primeira evidência da proliferação celular é o início do crescimento do enxerto, pois indica o restabelecimento das conexões vasculares entre os tecidos (NUNES et al., 2005). De acordo com ABREU & PEDROTTI (2003), para viabilizar a microenxertia, é necessário que as células da base do microenxerto entrem novamente em divisão e se desdiferenciem induzindo novas competências, como a de se diferenciar para formar novos tecidos estruturais e condutores.

Após 90 dias da microenxertia, a diferença entre os tamanhos dos microenxertos foi significativo com relação à idade dos porta-enxertos, ao local do microenxerto e ao tipo de enxertia (Tabela 3).

Tabela 2 - Porcentagem dos microenxertos com calo aparente na região da enxertia, em *Araucaria angustifolia*.

Idade do porta-enxerto (meses)	Local do microenxerto	Tipo de enxertia	
		Garfagem de topo em fenda cheia	Garfagem de topo sem fenda
2	caule	46,6 A a	6,6 B b
	hipocôtilo	53,3 B a	100,0 A a
6	caule	0,0 A b	13,3 A a
	hipocôtilo	40,0 A a	6,6 B a
12	caule	40,0 A a	6,6 B b
	hipocôtilo	66,6 A a	60,0 A a
CV (%)		37,5	

Médias não seguidas de mesma letra maiúscula na linha e mesma letra minúscula na coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Tabela 3 - Tamanho médio dos microenxertos após 90 dias da microenxertia, em *Araucaria angustifolia*.

Idade do porta-enxerto (meses)	Crescimento dos microenxertos (cm)
2	0,47 c
6	0,92 a
12	0,60 b
Local do microenxerto	Crescimento dos microenxertos (cm)
Caule	0,81 a
Hipocôtilo	0,51 b
Tipo de enxertia	Crescimento dos microenxertos (cm)
Garfagem de topo em fenda cheia	0,87 a
Garfagem de topo sem fenda	0,45 b
C V (%)	60,8

Médias não seguidas de mesma letra maiúscula na linha e mesma letra minúscula na coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Os porta-enxertos com seis meses de idade apresentaram o maior crescimento dos microenxertos, e o menor foi observado em porta-enxertos com dois meses. Isso confirma as observações de PAZ & PASQUAL (1998), que mostraram que a idade do microporta-enxerto é um fator que influencia o sucesso da enxertia.

Quanto ao local da enxertia, o maior crescimento foi obtido para as microenxertas realizadas no caule, o que provavelmente foi devido à maior semelhança entre os tecidos enxertados. A garfagem de topo em fenda cheia apresentou o maior crescimento dos microenxertos após 90 dias, sendo atribuída a este tipo de enxertia um maior contato entre as partes enxertadas, o que pode ter favorecido o restabelecimento precoce das conexões vasculares e o pegamento dos microenxertos.

CONCLUSÃO

As metodologias desenvolvidas permitem concluir que o processo de microenxertia em *Araucaria angustifolia* é eficiente e factível. Recomenda-se na propagação *in vitro* de *A. angustifolia* a enxertia de garfagem de topo sem fenda, realizada no caule de plantas com dois meses de germinação.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M.F. et al. Estudos histológicos preliminares da microenxertia de plantas micropagadas de macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.1, p.195-196, 2003.
- ABREU, M.F.; PEDROTTI, E.L. Micropagação de macieira. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n.31, p.100-108, 2003.
- CARVALHO, R.I.N. Fisiologia de produção de espécies frutíferas. In: WACHOWICZ, C.M.; CARVALHO, R.I.N. **Fisiologia vegetal: produção e pós-colheita**. Curitiba: Champagnat, 2002. Cap.6, p.135-182.
- ESAU, K. **Anatomia vegetal**. 3.ed. Barcelona: Omega, 1985. 780p.
- FEDER, N.; O'BRIEN, T.P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v.55, n.1, p.123-142, 1968.
- HARTMANN, H.T. et al. Principles of tissue culture for micropropagation. In: _____. **Plant propagation: principles and practices**. 6.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997. p.549-589.
- HERTEL, R.J.G. **Interpretação morfológica da Araucaria angustifolia**. 1980. 143f. Tese (Acesso à Classe de professor titular na área de Morfologia Vegetal) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- IRITANI, C. **Ação de reguladores de crescimento na propagação vegetativa por estauquia de Ilex paraguariensis Saint Hilare e Araucaria angustifolia (Bert.) O. Ktze.** 1981. 163f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- IRITANI, C. **Aspectos múltiplos da cultura *in vitro* da Araucaria angustifolia (Bert.) O. Ktze.** 1997. 200f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw Hill Book, 1940. 523p.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, v.3, p.421-427, 1980.
- NUNES, J.C.O. et al. Caracterização morfológica de microenxertia em macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27, n.1, p.80-83, 2005.

- PASQUAL, M. Introdução: fundamentos básicos. In: PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologias e aplicações**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 97p.
- PAZ, O.P.; PASQUAL, M. Microenxertia. In: TORRES, et al. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-CNPB, 1998. V.1, p.147-160.
- PILATI, R.; SOUZA, L.A. Morfoanatomia da plântula de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sarg. (Ulmaceae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.28, n.1, p.1-6, 2006.
- SANTOS, A.L. et al. Somatic embryogenesis in Parana pine *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.45, n.01, p.97-104, 2002.
- SILVA, R.P. et al. Regeneração de plantas de laranja 'Pêra' via organogênese *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.12, p.1153-1159, 2005.
- SOUZA, L.A.; OLIVEIRA, J.H.G. Morfologia e anatomia das plântulas de *Tabebuia avellaneda* Lor. Ex Griseb e *T. chrysotricha* (Mart. ex Dc.) Standl. (Bignoniaceae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.26, n.2, p.217-226, 2004.
- ZANETTE, F. et al. Aspectos básicos da cultura *in vitro* de *Araucaria angustifolia*. I. Organização e desenvolvimento dos meristemas axilares. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, v.9, p.7-13, 1987.