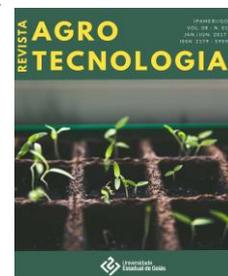


ESTABELECIMENTO IN VITRO DE *OCHROMA PYRAMIDALE* EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MEIO MS E SACAROSE

IN VITRO ESTABLISHMENT OF *OCHROMA PYRAMIDALE* IN DIFFERENT CONCENTRATIONS OF MS MEDIUM AND SUCROSE

Máira Beatriz Teixeira da Costa¹, Alcione da Silva Arruda², Muza do Carmo Vieira³, Mariana Silva Pereira de Paula⁴, José Magno Queiroz Luz⁵



Resumo: A propagação das sementes de *Ochroma pyramidale* é limitada, pois, possui dormência tegumentar e baixa taxa de germinação natural. Uma alternativa viável para essas limitações, é a micropropagação. Essa técnica visa produzir mudas em larga escala, com qualidade superior, em curto período e espaço reduzido. Dessa forma, o trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de sais no meio MS e de sacarose, no estabelecimento in vitro de sementes de pau-de-balsa. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4, duas concentrações de meio MS (50 e 100%) e quatro de sacarose (0, 15, 20 e 25 g L⁻¹), totalizando 8 tratamentos com 15 repetições e em cada repetição 3 indivíduos, totalizando, 360 indivíduos. Observou-se a influência da concentração do meio MS e sacarose no estabelecimento in vitro da espécie, uma vez que, as variáveis germinação, número de par de folhas, comprimento radicular e da parte aérea, massa seca e fresca, além dos menores valores de calogênese, plantas senescentes, e contaminação, foram obtidos, quando submetidas a baixa disponibilidade de sais minerais e sacarose. Os melhores tratamentos, foram os que continham 50% de sais no meio MS com 15 e 20 g L⁻¹ de sacarose.

PALAVRAS-CHAVE: Pau-de-balsa, micropropagação, cultura de tecidos.

Abstract: The propagation of *Ochroma pyramidale* seeds is limited due to their dormancy and low natural germination rate. A viable alternative to overcome these limitations is micropropagation. This technique involves large-scale production of superior quality in a short period of time and small space. Then, this study aimed to assess the effect of different concentrations of salt in MS medium and sucrose on the in vitro establishment of balsa wood seeds. This is a 2x4 factorial experiment using a completely randomized design, two concentrations of MS medium (50 and 100%) and four concentrations of sucrose (0, 15, 20 and 25 g L⁻¹), 8 treatments with 15 repetitions and 3 individuals in each repetition, totaling 360 individuals. The concentration of the MS medium and sucrose influenced the in vitro establishment of the species, given that the variables germination, number of leaf pairs, root and shoot length, dry and fresh mass, in addition to the lowest callogenesis, senescent plant and contamination values, were obtained under low mineral salt and sucrose availability. The best treatments were those that contained 50% salts in the MS medium with 15 or 20 g L⁻¹ of sucrose.

KEY WORDS: *Ochroma pyramidale*, micropropagation, tissue culture.

¹Graduanda em Engenharia Florestal, UEG, Ipameri-GO, mairabeatrizteixeira@hotmail.com, rodovia GO 330, Km 241, anel viário, Ipameri, GO, ²Prof. Doutora, UEG/Ipameri-GO, ³Doutora Responsável Laboratório de Biotecnologia IF Goiano - Campus Urutaí-GO, ⁴Mestranda em Agronomia, UFU/Uberlândia-MG, ⁵Prof. Doutor, UFU/Uberlândia-MG.

Recebido: 26/08/2016 – Aprovado: 20/11/2016

INTRODUÇÃO

A Flora Brasileira é reconhecida pela ampla diversidade de espécies, onde a Floresta Amazônica consiste no maior reservatório de diversidade vegetal do planeta (PEREIRA et al., 2011), no entanto, apresenta espécies pouco conhecidas e estudadas, como o pau-de-balsa *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban. (Malvaceae). Essa espécie é caracterizada por apresentar importância econômica, ecológica e social. Ocorre desde o Sul do México até a Bolívia (DALBERTO, 2012). Sua distribuição no Brasil está concentrada principalmente nos estados do Acre, Amazonas, Pará e Roraima (CARVALHO, 2010). Porém, existem várias regiões no País, detentoras de ótimas condições para o seu desenvolvimento, uma vez que, possui alta adaptabilidade (REIS, 2011).

O pau-de-balsa, é uma espécie utilizada em sistemas agroflorestais, plantios mistos destinados à recomposição de áreas degradadas e de preservação permanente, graças ao seu rápido crescimento e tolerância à luminosidade direta (SANTOS, 2014). Sua madeira, possui baixa densidade, grande resistência às tensões, tornando-a fácil de trabalhar (PINTO, 1998). Diante de suas características, pode ser empregada na construção de aeromodelos, jangadas, balsas, salva-vidas, boias e brinquedos (LAMPRECHT, 1990). Além disso, pode ser utilizada na fabricação de papel e celulose, forros de tetos, isolante térmico e caixas de embalagem de produtos perecíveis (RIZZINI, 1978). Apresenta alto potencial para fabricação de chapas de cimento madeira, móveis e pisos (SABOGAL et al., 2006). A paina que envolve sua semente pode ser útil para preencher almofadas e travesseiros (LORENZI, 1992).

Apesar do pau-de-balsa apresentar importância agroecológica, sua propagação possui algumas limitações em decorrência da dormência tegumentar, que acarreta a baixa taxa de germinação natural. Em decorrência desse fato, é fundamental aprofundar em estudos na propagação da espécie, com intuito de contribuir para o maior sucesso em sua utilização. Uma alternativa viável que é recomendada para a

maioria das espécies com dificuldade de germinação e armazenamento, é a técnica de micropropagação ou cultivo in vitro que visa facilitar a germinação, produção de mudas em larga escala, com qualidade superior, em curto período e espaço reduzido (DE MOURA et al., 2012). Essa técnica exige a otimização das condições de cultivo para cada espécie, em que o meio de cultura deverá suprir tecidos e órgãos com nutrientes necessários ao crescimento, basicamente, fornecer macro e micronutrientes, e um carboidrato para substituir o carbono fixado pela planta na atmosfera, através da fotossíntese (MONFORT et al., 2011).

Dentre as diversas formas de carbono no cultivo in vitro, a sacarose é a mais utilizada, por ser o hidratado de carbono mais comum na seiva do floema de muitas plantas (GAUCHAN, 2012). Vários autores, relataram seu efeito positivo, em diferentes espécies, além, da possibilidade de variações em sua concentração, o que beneficia o cultivo e reduz gastos (MOREIRA et al., 2007; SORACE et al., 2008 e SILVEIRA et al., 2012).

Quanto ao meio de cultura utilizado na micropropagação, muitos autores, mencionam a possibilidade de reduzir a concentração de sais do meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), para diversas espécies, com o intuito de melhorar o desenvolvimento e reduzir custos. Na micropropagação de microestacas de inhame, Simões et al., 2014 verificaram-se que a redução da concentração de sais e vitaminas do meio MS para 50%, proporcionou melhor desenvolvimento da parte aérea e radicular das plantas. Dantas et al. (2000), relataram melhor enraizamento in vitro de amoreira preta, quando utilizaram-se concentrações de sais no meio básico MS reduzidas a 1/2, 1/3 ou 1/4.

Diante da importância do pau-de-balsa, suas dificuldades de propagação e escassez de trabalhos publicados, envolvendo o seu cultivo in vitro, é fundamental estabelecer protocolos para favorecer a propagação da espécie. Dessa forma, este trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações de sais no meio MS e

sacarose, no estabelecimento in vitro de sementes de pau-de-balsa.

MATERIAL E MÉTODOS

As sementes foram coletadas no município de Orizona-GO, após levantamento e identificação de árvores matrizes, em um povoamento com 4 anos de idade. Essa prospecção teve por objetivo a seleção de árvores com características desejáveis a propagação vegetativa, no qual foram avaliados os parâmetros de altura da árvore e diâmetro do fuste, padrões estes facilmente visualizados em campo.

Após a coleta, os frutos foram encaminhados ao Laboratório de Sementes Florestais da Universidade Estadual de Goiás - Câmpus Ipameri, para o beneficiamento e armazenamento. A extração das sementes ocorreu de forma manual, com posterior descarte dos indivíduos visivelmente inviáveis ou atacados por insetos, em seguida, foram armazenadas em sacos de papel, a fim de, garantir a conservação de suas qualidades físicas, fisiológicas e sanitárias.

Após 30 dias de armazenamento, no Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal Goiano - Câmpus Urutaí-GO, foi realizada a desinfestação das sementes, procedimento realizado antes do estabelecimento in vitro. A desinfestação foi dividida em três partes: 1) utilização de detergente por 5 minutos, para quebra da tensão superficial intensificando a ação dos outros produtos; 2) submersão das sementes em álcool 70% por um minuto e 3) finalizando com uso de hipoclorito 50% por 30 minutos sob agitação constante. Após cada procedimento as sementes foram lavadas com água destilada até total eliminação dos produtos utilizados. A quebra de dormência ocorreu através da imersão em água fervente por 8 minutos, conforme metodologia de Barbosa et al. (2004).

As sementes foram inoculadas em meio MS, com diferentes concentrações de sais (macro e micronutrientes) (50 e 100%), combinados com quatro concentrações de

sacarose (0; 15; 20 e 25 g L⁻¹) acrescidos com 1g L⁻¹ de benzylaminopurina (BAP). O pH foi ajustado para $5,8 \pm 2$ antes da esterilização a 1,5 atm, a 120°C por 20 minutos conforme metodologia de Rodrigues (2010).

A inoculação das sementes ocorreu em tubos de ensaio (25 x 150 mm), vedados com duas camadas de Insulfilm, contendo 10 mL de meio e uma semente por frasco. Este procedimento foi realizado em câmara asséptica de fluxo laminar, para controle da assepsia. Após a inoculação, os tubos foram colocados em sala de crescimento em meia luz por 7 dias, para indução de germinação, com temperatura de $25^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ e luminosidade de microMols de 40W com lâmpadas fluorescentes e foto período de 16 horas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4, duas concentrações de meio MS (50 e 100%) e quatro de sacarose (0, 15, 20 e 25 g L⁻¹), totalizando 8 tratamentos com 15 repetições e em cada repetição contendo 3 sementes, dessa forma, inoculou-se 360 sementes de pau-de-balsa.

Os tratamentos foram dispostos da seguinte forma: T1- MS 50% e 0 g L⁻¹ de sacarose; T2- MS 50% e 15 g L⁻¹ de sacarose; T3- MS 50% e 20 g L⁻¹ de sacarose; T4- MS 50% e 25 g L⁻¹ de sacarose; T5- MS 100% e 0 g L⁻¹ de sacarose; T6- MS 100% e 15 g L⁻¹ de sacarose; T7- MS 100% e 20 g L⁻¹ de sacarose e T8- MS 100% e 25 g L⁻¹ de sacarose.

Foram avaliadas as seguintes variáveis aos 90 dias após a inoculação: a taxa de germinação (%), o número de par de folhas, o comprimento radicular (cm) e o comprimento da parte aérea (cm), massa seca e fresca das plântulas (g), calogênese, senescência e contaminação (%).

Os dados relativos a porcentagem foram transformados em $\arcsen 1. \sqrt{(x/100)}$ e os dados quantitativos foram transformados por $2. \sqrt{(x+1)}$, com o intuito de se ter homogeneidade e normalidade nos dados. Em seguida, foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de

Tukey através do programa ASSISTAT na versão 7.7 beta (SILVA, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de pau-de-balsa iniciaram o processo de germinação in vitro após três dias da inoculação, caracterizada pela emissão de prostrusão da raiz primária > 2 mm, em que os maiores índices de emergências foram do terceiro ao décimo dia.

A concentração de sais do meio MS influenciou significativamente a germinação das sementes de pau-de-balsa. A maior porcentagem de germinação, número de par de folhas, comprimento radicular, comprimento aéreo das plântulas, massa seca e fresca foi observado quando utilizou-se o meio com 50% dos nutrientes (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios de germinação, número de par de folhas, comprimento radicular, comprimento aéreo, massa seca e fresca em *Ochroma pyramidales*, em função do meio de cultura. Ipameri-GO, 2015.

Meio MS	Germ. (%)	Folhas	Comp. (cm)		Massa (g)	
			Raiz	Aéreo	Seca	Fresca
50%	43,33a	1,77a	5,79a	4,62a	0,715a	0,786a
100%	30,55b	1,49b	4,16b	3,64b	0,712b	0,753b

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Resultado semelhante foi obtido por Araújo et al., (2015), trabalhando com Gloxínia eles perceberam que o meio MS 50%, resultou nas melhores médias para número de folhas e brotos. Reis et al., (2015) observaram que a maior concentração de sais no meio de cultura interferiu no potencial osmótico e, conseqüentemente, na disponibilidade de água para o processo de embebição da semente durante a germinação, o que afetou diretamente o número de par de folhas, comprimento radicular e massa seca.

Com relação ao efeito da sacarose, independentemente da concentração de sais do

meio, pode-se observar que o aumento de sacarose não favoreceu o crescimento de par de folhas e comprimento radicular. Em contrapartida o aumento na concentração de sacarose proporcionou um acréscimo na massa seca o que demonstra comportamento linear dessa variável na regressão, porém afetou a taxa de germinação nas concentrações de 20 a 25 g L⁻¹ de sacarose (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios de germinação, número de par de folhas, comprimento radicular, comprimento aéreo e massa seca em *Ochroma pyramidales*, em função das concentrações de sacarose. Ipameri-GO, 2015.

Conc. de Sac. (g L ⁻¹)	Germ. (%)	Folhas	Comp. Raiz (cm)	Massa Seca (g)
0	48,9a	1,78a	5,73a	0,712 b
15	47,3a	1,64a	5,02a	0,713ab
20	44,5ab	1,52a	4,75a	0,714a
25	36,7b	1,30b	3,59b	0,715a

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

A sacarose é o carboidrato usado para substituir o carbono que a planta fixa da atmosfera pela fotossíntese (MONFORT et al., 2011), porém, quando o explante utilizado trata-se de semente, esta já possui material de reserva que irá nutrir o embrião nessa fase inicial de germinação. Os resultados do trabalho, provavelmente, devem-se a esse fato de que a semente de pau-de-balsa já possui em sua reserva nutritiva um teor de sacarose que lhe permita a emissão da plúmula e da radícula, e conseqüentemente um melhor desenvolvimento da plântula em concentrações menores de sacarose.

A maior disponibilidade de sacarose no meio extracelular pode provocar maior perda de água devido à pressão osmótica exercida sobre a semente, impedindo a embebição necessária para a germinação (REIS et al., 2015). Isso conseqüentemente afetou a germinação do pau-de-balsa nas doses mais altas de sacarose.

Analisando as diferentes concentrações de sacarose (0, 15 e 30 g L⁻¹), no crescimento in vitro de plântulas de Mirtilo (*Vaccinium myrtillum*), Damiani e Schuch (2009) concluíram que as maiores porcentagens de enraizamento ocorreram em meio sem a adição de sacarose. Por outro lado, estes resultados discordam, daqueles encontrados por Monfort et al., (2015), que trabalhando com *Ocimum selloi*, verificaram efeito negativo sobre o número, comprimento, matéria seca da brotação e número de raízes na ausência de sacarose.

O efeito das concentrações de sacarose no comprimento da parte aérea foi dependente das concentrações do meio MS, sendo assim, necessário a realização de desdobramento. Ao avaliar a concentração do meio dentro de cada concentração de sacarose, notou-se superioridade do meio 50%, porém, o comportamento é diferente para cada concentração de sacarose, onde a ausência desse componente proporcionou o maior comprimento da parte aérea enquanto na dose de 25 g L⁻¹ o menor comprimento (Tabela 3).

Tabela 3. Desdobramento do comprimento da parte aérea em *Ochroma pyramidales*, concentração do meio dentro de cada dose de sacarose. Ipameri-GO, 2015.

Meio MS	Conc. de Sac. (g L ⁻¹)			
	0	15	20	25
50%	5,38aA	5,34aA	4,62aAB	2,94aB
100%	4,22aA	2,35bB	4,53aA	2,23aB

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Considerando a concentração de sacarose dentro do meio, os resultados indicam comportamento semelhante entre os meios e demonstra que na concentração abaixo de 15 g L⁻¹ (10 g L⁻¹), a altura da parte aérea expressou o seu comprimento máximo (Tabela 4).

Tabela 4. Desdobramento do comprimento da parte aérea em *Ochroma pyramidales*,

concentração de sacarose dentro de cada meio. Ipameri-GO, 2015.

Conc. de Sac. (g L ⁻¹)	Parte Aérea (cm)	
	Meio 50%	Meio 100%
0	5,38a	4,62a
15	5,34a	4,53a
20	4,62ab	4,23ab
25	2,94b	2,23b

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

A massa fresca foi influenciada pela concentração do meio MS e por meio da interação entre os tratamentos. Avaliando o meio de forma independente nota-se que o MS 50% proporcionou um peso médio em gramas de 0,786, em contrapartida o meio MS 100%, foi de apenas 0,753 (Tabela 1). Através do desdobramento do meio dentro de cada dose, foi possível perceber que quando utilizou o meio MS com 100% dos sais minerais aliado ao aumento das concentrações de sacarose, houve diminuição no peso da massa fresca em relação ao MS 50%, portanto o meio 50% com 15 ou 20 g L⁻¹ de sacarose proporcionaram os melhores resultados para massa fresca (Tabela 5).

Tabela 5. Desdobramento da concentração de sais do meio MS dentro de cada dose de sacarose, da massa fresca em *Ochroma pyramidales*. Ipameri-GO, 2015.

Meio MS	Conc. de Sac. (g L ⁻¹)			
	0	15	20	25
50%	0,779aA	0,811aA	0,802aA	0,753aA
100%	0,792 aA	0,732bA	0,755bA	0,732aA

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Através do desdobramento das concentrações de sacarose dentro de cada meio, nota-se que o melhor o meio de 50% em conjunto com as concentrações de 15 ou 20 g L⁻¹ de sacarose proporcionaram os maiores valores

de massa fresca mesmo não sendo diferentes entre si estatisticamente (Tabela 6).

Tabela 6. Desdobramento da concentração de sacarose dentro de cada meio, da massa fresca em *Ochroma pyramidales*. Ipameri-GO, 2015.

Conc.de Sac. (g L ⁻¹)	Massa fresca (g)	
	Meio 50%	Meio 100%
0	0,779a	0,792a
15	0,811a	0,748a
20	0,802a	0,755a
25	0,753a	0,732a

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

A concentração de sacarose teve efeito significativo no aparecimento de plantas senescentes e com calogênese (Tabela 7). Quanto a senescência das plantas, observamos que na ausência de sacarose e na maior dose utilizada (25 g L⁻¹) houve os menores número de plantas senescentes, já nas doses de 15 e 20 g L⁻¹ houve uma maior quantidade de plantas senescentes. A maior incidência de plantas com calogênese, surgiu nas concentrações de sacarose (15 e 20 g L⁻¹), com médias de 1,45 e 1,43 respectivamente, Já na ausência de sacarose e na concentração máxima de 25 g L⁻¹ a presença de calos foi menor.

Tabela 7. Presença de plantas senescentes e com calogênese em *Ochroma pyramidales*, em função das concentrações de sacarose. Ipameri-GO 2015.

Conc. de Sac. (g L ⁻¹)	Plantas Senescentes	Plantas com Calos
0	1,02ab	1,42ab
15	1,10a	1,45a
20	1,08a	1,43a
25	1,00b	1,41b

*Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

A calogênese é um evento fisiológico comum na propagação in vitro de espécies lenhosas e relevante em estudos de variabilidade somaclonal nos programas de melhoramento genético. Apesar disso, não é, considerada favorável na micropropagação, de acordo com Bassan et al., (2006).



Figura 1. Calogênese em folhas de plântulas de *Ochroma pyramidales* cultivadas in vitro e plântulas em meio MS 50% com 15 g L⁻¹ de sacarose. Ipameri, 2015.

Células e tecidos cultivados in vitro não são autotróficos, necessitando de uma fonte externa de carbono no meio para o crescimento e multiplicação celular. O açúcar atua não apenas como fonte trófica, mas também como regulador osmótico do meio de cultura, influenciando diretamente no crescimento e morfogênese das culturas (PILATTI, 2011).

Em estudos Pereira et al., (2003) afirmam que a sacarose influencia nos processos de iniciação e diferenciação de embriões somáticos. Ribeiro et al., (2015) relataram, que a concentração de sacarose influencia diretamente a formação de calos em *Pfaffia glomerata*.

A variável contaminação foi influenciada significativamente pela concentração de sais do meio MS, os resultados demonstram que o meio com 100% de sais apresentou o maior índice de contaminação (49%), enquanto o meio suplementado com 50% de sais resultou em um índice de contaminação menor (33,8%).

CONCLUSÃO

Existe influência da concentração do meio MS e da sacarose no estabelecimento in vitro do *Ochroma pyramidale*

As sementes de pau-de-balsa, não apresentam comportamento exigente, na germinação *in vitro*, tendo par de folhas, comprimento radicular, comprimento de parte aérea, massa seca e fresca, além dos menores valores de calogênese, plantas senescentes, e contaminação, obtidos, quando a espécie foi submetida a baixa disponibilidade de sais minerais e sacarose.

Os melhores tratamentos, para a maioria das variáveis, foram os que continham 50% de sais no meio MS e as menores doses de sacarose, sendo elas, 15 g L⁻¹ e 20 g L⁻¹.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Goiás, pelo incentivo na forma de bolsa de iniciação científica (programa PBIC/UEG) e ao grupo de pesquisa Biogen Cerrado - UEG/Câmpus Ipameri.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, A. G.; FIORINE, C. V. A.; PASQUAL, M.; SILVA, B. A.; VILLA, F. Multiplicação *in vitro* de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.). *Ceres*, Viçosa, v. 51, n. 293, p.117-127, 2015.
- BARBOSA, A. P.; SAMPAIO, P. T. B.; CAMPOS, M. A. A.; VARELA, V. P.; GONÇALVES, C. Q. B.; IIDA, S. Tecnologia alternativa para a quebra de dormência das sementes de pau-de-balsa (*Ochroma lagopus* Sw. Bombacaceae). *Acta Amazônica*, v. 34, n. 1, p. 107-110, 2004.
- BASSAN, J. S.; REINIGER, L. R. S.; ROCHA, B. H. G.; SEVERO, C. R. P.; FLÔRES, A. V. Oxidação fenólica, tipo de explante e meios de cultura no estabelecimento *in vitro* de canafístula (*Peltophorumdubium* (Spreng.) Taub.). *Ciência Florestal*, Santa Maria, v.16, n. 1, p.381-390, 2006.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2010. 644 p.
- DALBERTO, D. S. **Estresse osmótico na germinação de sementes de *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam.) Urb.(Malvaceae)**. 2012. 46p. (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade do Estado de Mato Grosso, Cáceres - MT. Disponível em: http://portal.unemat.br/media/oldfiles/ppgca/docs/davi_dalberto.pdf
- DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Enraizamento *in vitro* de mirtilo em condições fotoautotróficas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n. 4, p.1012-1017, 2009.
- DANTAS, M. C. A.; CERETTA, M.; COUTINHO, F. E.; FORTES, G. R. de L. Enraizamento *in vitro* da amoreira-preta (*Rubus* sp.), cultivar Caigangue. **Agropecuária de Clima Temperado**, Pelotas, v. 3, n. 2, p. 123-130, 2000.
- DE MOURA, L. C.; TITON, M.; FERNANDES, J. S. C.; SANTANA, R. C.; OLIVEIRA, M. L. R. DE. Micropropagação de sucupira-preta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 12, p. 1691-1698, 2012.
- GAUCHAN, D. P. Effect of different sugar shoot regeneration of maize (*Zea mays* L.). **Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology**, Kathmandu, v. 8, n. 1, p. 119-124, 2012.
- LAMPRECHT, H. **Silvicultura nos trópicos: ecossistemas florestais e respectivas espécies arbóreas: possibilidade e métodos de aproveitamento sustentado**. FAO, Zusammenarbeit. 1990. 343p.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Ed. Plantarum, 1992. 351p.
- MONFORT, L. E. F.; ALVARENGA, I. C. A.; MOREIRA, C. M.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; ANDRADE, H. B. DE. Desenvolvimento *in vitro* de *Ocimum selloi* em diferentes variações do meio de cultivo MS. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 4692-4697, 2011.
- MONFORT, L. E. F.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; ROSSI, Z. T.T.; LIMA, A. F.; SILVA, S. T.; SILVA, G. M.

- Micropropagation and *in vitro* seed germination of atoveran. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n. 2, p. 215-223, 2015.
- MOREIRA, B. M. T.; TOMBA, E. C.; ZONETTI, P. C. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídea (*Laelia purpurata* Lindl var *venosa* X *Cattleya warneri* T. Moore alba) sob diferentes concentrações de sacarose e frutose. **Revista de Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v.2, n.2, p.16-21, 2007.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, 1962.
- PEREIRA, A. R.; PASQUAL, M.; CHAGAS, E. A.; FRÁGUAS, C. B.; DUTRA, L. F. Indução de embriões somáticos globulares e cordiformes de cafeeiro por BAP e sacarose. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 4, n. 1-2, p. 77-80, 2003.
- PEREIRA, L. A.; PINTO SOBRINHO, F. A.; COSTA NETO, S. V. Florística e estrutura de uma mata de terra firme na reserva de desenvolvimento sustentável Rio Iratapuru, Amapá, Amazônia Oriental, Brasil. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 41, n. 1, p. 113-122, 2011.
- PILATTI, F. K. **Crescimento, perfil metabólico e citoquímica de calos de *Cedrela fissilis* vellozo (Meliaceae)**. 2011. 116p. (Mestrado em Biotecnologia e Biociências) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/95160/294464.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- PINTO, A. M. **Conservação e vigor de sementes de pau-de-balsa *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban**. 1998. 71f. (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PR. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/aa/v34n2/v34n2a10.pdf>
- REIS, C. A. F.; FILHO, E. P. Estado da arte de plantios com espécies florestais de interesse para o Mato Grosso. Colombo, PR: **Embrapa Florestas**. v. 0, n. 1, p. 39-45, 2011.
- REIS, E. S.; PINTO, J. E. B.; ROSADO, L. D. S.; CORRÊA, R. M. Influência do meio de cultura na germinação de sementes *in vitro* e taxa de multiplicação de *Melissa officinalis* L. **Ceres**, Viçosa, v. 55, n. 3, p. 160-167, 2015.
- RIBEIRO, J. M.; TEIXEIRA, S. L.; BASTOS, D. C. Calogênese em explantes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivados em meio nutritivo esterilizado com hipoclorito de sódio. **Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 5, p. 537-541, 2015.
- RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil, manual de dendrologia brasileira**. São Paulo: Ed. Blücher. 1978. 296p.
- RODRIGUES, I. C. S. **Micropropagação, Tolerância à Salinidade e Análise de Betacianina em Plantas de *Alternanthera Brasiliiana* (L.) Kuntze, Cultivadas *in vitro***. 2010 45p. (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas - RS.
- SABOGAL, C.; ALMEIDA, E.; MARMILLOD, D.; CARVALHO, J. O. P. **Silvicultura na Amazônia Brasileira: Avaliação de experiências e recomendações para implementação e melhoria dos sistemas**. Belém: CIFOR, 2006. 192p.
- SANTOS, U. F.; XIMENES, F. S.; LUZ, P. B.; JÚNIOR, S. S.; SOBRINHO, S. P. Níveis de sombreamento na produção de mudas de pau-de-balsa (*Ochroma pyramidale*). **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 129-136, 2014.
- SILVEIRA, D. G.; SOUZA, F. V. D.; VIDAL, A. M.; LEDO, C. A. S.; SANTANA, J. R. F. Efeito da sacarose e da aeração dos recipientes no enraizamento *in vitro* de Caroá. In: Embrapa Mandioca e Fruticultura- Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE

RECURSOS GENÉTICOS. **Anais...**
Brasília, DF: Sociedade Brasileira de
Recursos Genéticos, 2012. 1 CD-ROM.

SIMÕES, K. S.; LINO, L. S. M.; SOUZA, A.
S.; SILVA, S. O.; LEDO, C. A. S.
Enraizamento de inhamo em meios MS e
carvão ativado. **Científica**, Jaboticabal, v.
42, n. 2, p. 164-169, 2014.

SORACE, M.; FARIA, R. T.; JUNIOR, C. V.
D.; GOMES, G. P. G.; BARBOSA, C. M.;
VIEIRA, F. G. N.; SILVA, G. L. S. DA.;
TAKAHASHI, L. S. A.; SCHNITZER, J. A.
Crescimento *in vitro* de *Oncidium baueri*
(Orchidaceae) em diferentes concentrações
de macronutrientes e sacarose. **Semina:
Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p.
775-782, 2008.