

## Plantas Matrizes na Propagação Vegetativa







ISSN 0103-0205

Junho, 2012

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa de Algodão  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## ***Documentos 242***

### ***Plantas Matrizes na Propagação Vegetativa***

*Julita Maria Frota Chagas Carvalho*

*Marina Medeiros de Araújo Silva*

Campina Grande, PB

2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Algodão**

Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário  
CEP 58428-095  
Caixa Postal 174  
Fone: (83) 3182 4300  
Fax: (83) 3182 4367  
Home page: <http://www.cnpa.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpa.embrapa.br](mailto:sac@cnpa.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Odilon Reny Ribeiro Ferreira Silva  
Secretário-Executivo: Geraldo Fernandes de Sousa Filho  
Membros: Augusto Guerreiros Fontoura Costa, Gilvan Barbosa Ferreira, João Luis da Silva Filho, João Paulo Saraiva Morais, Liziane Maria de Lima, Marleide Magalhães de Andrade Lima, Valdinei Sofiatti e Virgínia de Souza Columbiano Barbosa  
Supervisão editorial: Geraldo Fernandes de Sousa Filho  
Revisão de texto: Everaldo Correia da Silva Filho  
Normalização bibliográfica: Valter Freire de Castro  
Tratamento de ilustrações: Geraldo Fernandes de Sousa Filho  
Editoração eletrônica: Geraldo Fernandes de Sousa Filho  
Foto da capa:  
Capa: Flávio Tôrres de Moura

**1ª edição**

1ª impressão (2012): on-line

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Algodão

---

Carvalho, Julita Maria Frota Chagas.

Plantas Matrizes na propagação vegetativa. / por Julita Maria Frota Chagas Carvalho e Marina Medeiros de Araújo Silva - Campina Grande: Embrapa Algodão, 2012.

36 p. (Embrapa Algodão/ Documentos, ISSN 0103-0205; 242).

1. Produção de mudas-legislação. 2. Germoplasma-armazenamento. 3. Jardim clonal. 4. Minijardim clonal. 5. Microjardim clonal. 6. Plantas matrizes-seleção. 7. Plantas matrizes-manutenção. 8. Plantas matrizes-cultivo in vitro. I. Carvalho, Julita Maria Frota Chagas. II. Silva, Marina Medeiros de Araújo. III. Título. IV. Série.

---

CDD 633

© Embrapa 2012

# **Autores**

**Julita Maria Frota Chagas Carvalho**

Engenheira agrônoma, Ph.D. em Microbiologia  
Pesquisadora da Embrapa Algodão  
julita.carvalho@embrapa.br

**Marina Medeiros de Araújo Silva**

Bióloga M.Sc. em Melhoramento Genético de Plantas  
marinamedeirosas@yahoo.com.br

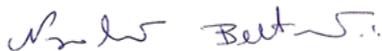


# Apresentação

A micropropagação ou propagação *in vitro* é, dentre as técnicas de cultivo de tecidos, a de maior aplicabilidade. Destina-se principalmente àquelas espécies que são de difícil propagação pelos métodos convencionais, no auxílio dos programas de melhoramento genético e na transgenia, permitindo a obtenção de grande número de plantas saudáveis e geneticamente uniformes em curto período de tempo. Entretanto, alguns dos fatores decisivos para o êxito dessa técnica são as condições fisiológica, fitossanitária e a juvenildade da planta doadora de explante, ou seja, da planta matriz. As plantas matrizes devem ser obtidas a partir das plantas básicas, devendo, também, ser cultivadas em ambientes protegidos de vetores de pragas e patógenos.

A implantação de jardins clonais tem como objetivo produzir material propagativo de caráter juvenil e vigor vegetativo. A utilização de jardim clonal tem sido a forma mais aplicada no estabelecimento de áreas de multiplicação vegetativa. A partir de suas matrizes, podem ser retirados materiais para propagação mediante técnicas convencionais de propagação vegetativa, como estaquia e enxertia, ou propágulo para o cultivo *in vitro*.

A maioria das biofábricas surgiu agregada aos viveiros de companhias produtoras de mudas, com objetivo de fornecer material propagativo livre de insetos, vírus e patógenos, a fim de acelerar os métodos convencionais de propagação vegetativa.



Chefe-Geral da Embrapa Algodão



# SUMÁRIO

<b>Plantas Matrizes na Propagação Vegetativa.....</b>	<b>9</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>9</b>
<b>2. Aspectos legais sobre a produção de mudas certificadas a partir de plantas matrizes .....</b>	<b>11</b>
<b>3. Formas de armazenamento de germoplasma para a propagação de plantas .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Jardim clonal.....</b>	<b>14</b>
<b>3.2 Minijardim clonal.....</b>	<b>16</b>
<b>3.3 Microjardim clonal.....</b>	<b>17</b>
<b>4. Seleção e manutenção de plantas matrizes.....</b>	<b>18</b>
<b>5. Plantas matrizes no cultivo <i>in vitro</i>.....</b>	<b>21</b>
<b>6. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>27</b>



# Plantas Matrizes na Propagação Vegetativa

---

*Julita Maria Frota Chagas Carvalho*

*Marina Medeiros de Araújo Silva*

## 1. Introdução

A propagação assexuada é obtida por meio de partes vegetativas de plantas que retêm a capacidade de regeneração. Mediante técnicas como a enxertia, estaquia, alporquia, mergulhia e micropropagação, proporciona-se a perpetuação de genótipos superiores com grande precisão, o que se denomina de propagação clonal. A partir daí são originados os clones, definidos como toda a descendência a partir de um indivíduo, por via exclusivamente assexuada. Por causa da ocorrência apenas de divisões mitóticas, esses indivíduos são genotipicamente idênticos (NAKASU, 1979; PAIVA; GOMES, 2001).

Métodos de propagação assexuada são uma alternativa para a rápida multiplicação de mudas, com produção em larga escala, permitindo a formação de cultivos homogêneos quanto à produtividade, qualidade de frutos ou flores, precocidade e tolerância às pragas e doenças, além da antecipação do início da produção comercial, a partir da redução da fase juvenil da planta (LIRA JÚNIOR et al., 2007).

Segundo Grattapaglia e Machado (1998), muitos são os fatores que influenciam no sucesso da utilização dos métodos de propagação, dentre estes se destaca, especialmente, a qualidade da planta fornecedora do material vegetal; incluindo seu manejo cultural e

ambiental, pois os estados nutricional, fisiológico e fitossanitário têm elevada influência no posterior comportamento da cultura. Plantas bem nutridas, sem sintomas de deficiência nutricional ou hídrica, em geral, fornecem estruturas de propagação de melhor qualidade. De acordo com a Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, (BRASIL, 2003), plantas matrizes são conceituadas como plantas fornecedoras de material de propagação que mantêm as características da planta básica (obtida por melhoramento genético) da qual seja proveniente. Portanto, para a criação de um viveiro de produção de mudas, é necessária a obtenção de matrizes ou plantas-mãe de qualidade. A manutenção deste conjunto de plantas fornecedoras de material de multiplicação, sejam elas matrizes ou básicas, geralmente, é feita em unidades chamadas de jardins clonais (coleção dinâmica), os quais constituem meio de conservação da variabilidade genética de determinada espécie fora de sua comunidade natural (*ex situ*), assim como a coleção ativa ou banco de germoplasma e a coleção *in vitro*. Plantas matrizes também podem ser mantidas em comunidades naturais (*in situ*), como parques nacionais e reservas biológicas (CARVALHO et al., 2009; FALEIRO, 2008; RAMALHO et al., 2004 ).

Muitos são os setores que contribuem para o aumento na demanda da produção de mudas, como o agrícola, graças à constante renovação e expansão das lavouras; o setor florestal, para a recomposição de áreas degradadas; além da construção civil, que necessita de mudas de plantas ornamentais para jardins, praças e ambientes comerciais. Assim, o conhecimento da técnica de produção, bem como dos requisitos para aquisição e manutenção de plantas utilizadas como matrizes são fundamentais para obtenção de mudas de qualidade, devendo-se ressaltar que cada espécie apresenta necessidades específicas de manejo.

Esta revisão descreve os principais aspectos relacionados à manutenção de plantas matrizes utilizadas na propagação assexuada, incluindo a legislação vigente e a obtenção e manutenção das matrizes em jardins clonais e por meio do cultivo *in vitro*.

## **2. Aspectos legais sobre a produção de mudas certificadas a partir de plantas matrizes**

Com o objetivo de garantir a oferta de materiais de propagação vegetal de qualidade para os produtores rurais e certificar a produção de sementes e mudas em conformidade com os padrões de qualidade fisiológica, fitossanitária e identidade genética, a legislação de sementes e mudas, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), fornece as diretrizes que determinam as regras, processos e documentação exigidos para produção e comercialização de mudas, por meio da Lei nº 10.711/2003 - Lei de Sementes e Mudanças (BRASIL, 2003). Esta é regulamentada pelo Decreto nº 5.153/2004 (BRASIL 2004). Abaixo deste Regulamento existem as Instruções Normativas nº 9/2005 e 24/2005, que trazem as normas para produção, comercialização e utilização de sementes e mudas, respectivamente (LONDRES, 2006; MIRANDA, 2008).

A legislação também apresenta algumas conceituações importantes. As que são pertinentes a esta revisão estão descritas abaixo:

- **Planta básica:** planta obtida por meio de processo de melhoramento, sob a responsabilidade e controle direto do seu obtentor ou introdutor, mantidas as suas características de identidade e pureza genética.
- **Planta matriz:** planta fornecedora de material de propagação que mantém as características da planta básica da qual seja proveniente.
- **Clone:** planta obtida por meio de propagação vegetativa, geneticamente idêntica à planta original.
- **Muda:** material de propagação vegetal de qualquer gênero, espécie ou cultivar, proveniente de reprodução sexuada ou assexuada e que tenha a finalidade específica de plantio.
- **Muda certificada:** muda que tenha sido submetida ao processo de certificação, proveniente de planta básica ou de planta matriz.
- **Jardim clonal:** conjunto de plantas, matrizes ou básicas, destinado a fornecer material de multiplicação de determinada cultivar.

- Borbulheira: conjunto de plantas de uma mesma espécie ou cultivar proveniente de planta básica, planta matriz ou muda certificada, destinado a fornecer borbulhas.
- Unidade de propagação *in vitro*: local destinado à propagação vegetativa visando à produção de mudas a partir de cultura de tecidos.
- Viveiro: área convenientemente demarcada e tecnicamente adequada para a produção e manutenção de mudas.
- Origem genética: conjunto de informações que identifica os progenitores e especifica o processo utilizado para obtenção de uma cultivar.

De acordo com o Regulamento da Lei 10.711 (arts. 46 e 47), (BRASIL, 2003), o processo de produção de mudas inicia-se pela inscrição dos viveiros ou unidades de propagação *in vitro* e conclui-se com a emissão da nota fiscal de venda pelo produtor. O processo compreende as seguintes etapas: obtenção da planta básica, obtenção da planta matriz, instalação do jardim clonal ou borbulheira e produção da muda.

As mudas certificadas são as únicas que oferecem garantia quanto às melhores características genéticas, fitotécnicas e fitossanitárias. A certificação é o processo que, obedecidos normas e padrões específicos, objetiva a produção de mudas, mediante controle de qualidade em todas as suas etapas, incluindo o conhecimento da origem genética e o controle de gerações (PEREIRA et al., 2005).

No processo de certificação, a obtenção das categorias dar-se-á da seguinte forma:

- I - planta matriz será obtida da planta básica.
- II - A muda certificada será obtida a partir de material de propagação proveniente de planta básica, planta matriz, jardim clonal ou borbulheira.

As plantas básicas devem ser formadas e mantidas por entidades governamentais, sob condições de ambiente protegido, com adequada caracterização quanto à fidelidade genética e à ausência de patógenos.

As plantas matrizes devem ser obtidas a partir das plantas básicas, devendo, também, ser cultivadas em ambiente protegido de vetores de pragas. Já as mudas certificadas devem ser produzidas a partir de métodos convencionais de propagação vegetativa ou por cultura de tecidos, sempre utilizando plantas matrizes registradas, substrato isento de patógenos e propágulos de plantas daninhas, sob condições de ambiente protegido (ARANTES, 2004; BUENO, 2006).

Segundo a Instrução Normativa nº 24/2005, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL 2005), a produção de mudas certificadas requer a inscrição das plantas fornecedoras de material de propagação (planta básica, planta matriz, jardim clonal e borbulheira), a qual deverá ser solicitada ao órgão de fiscalização da Unidade da Federação em que estes estejam instalados. A inscrição deverá ser renovada a cada três anos para planta básica e planta matriz, e anualmente para jardim clonal e borbulheira.

### **3. Formas de armazenamento de germoplasma para a propagação de plantas**

O germoplasma é o conjunto de material genético de uma espécie (VIEIRA, 2000). Segundo Ramalho et al. (2004), as duas estratégias básicas de conservação de germoplasma, propostas como medidas de prevenção ao processo de erosão genética, são a conservação *in situ* (no ambiente onde a espécie evoluiu) e a conservação *ex situ* (realizada em bancos de germoplasma), onde este pode ser armazenado na forma de sementes, jardins de coleta ou jardins clonais, por meio do cultivo *in vitro* e criopreservação.

Os bancos de germoplasma são unidades conservadoras de material genético de uso imediato ou com potencial de uso futuro, com a finalidade de manejar a variabilidade genética entre e dentro da espécie, com fins de utilização para a pesquisa em geral, especialmente para o melhoramento genético. Os bancos de germoplasma são compostos ou mantidos de formas variáveis, em razão das espécies com que se

trabalha, suas características específicas e também com os recursos humanos e físicos disponíveis (CARVALHO et al., 2008; LIRA JÚNIOR, 2005; SOUZA et al., 2009).

As plantas matrizes utilizadas na propagação vegetativa podem ser mantidas em jardins clonais ou sob condições de cultivo *in vitro*.

### 3.1 Jardim clonal

Clone é definido como sendo um grupo de plantas com as mesmas características genéticas em razão de serem originadas, por multiplicação assexuada, de um mesmo genótipo (indivíduo) (CAVALCANTI JÚNIOR; BARROS, 2002). Portanto, jardins clonais são pomares formados por um ou vários grupos de plantas clonadas (matrizes), cuja finalidade é a produção de propágulos para formação de mudas de qualidade, destinadas à implantação de pomares e viveiros comerciais. A vantagem desse tipo de pomar está no fato de que, enquanto uma única matriz nos fornece uma quantidade limitada de propágulos, os jardins clonais possibilitam a oferta de uma quantidade infinitamente maior de materiais propagativos geneticamente idênticos (CAVALCANTI JÚNIOR, 2000a; HOPPE, 2004).

Um aspecto importante a ser considerado nos jardins clonais é o papel da propagação vegetativa que possibilita a manutenção dos genótipos por intermédio da clonagem, preservando as suas características desejáveis; já que no processo de reprodução sexuada as características de interesse, dependendo do sistema reprodutivo da espécie, podem ser dissipadas logo na primeira geração, acarretando o surgimento de diversos padrões agronômicos e fisiológicos, o que não é comercialmente desejável. A implantação de jardins clonais com o objetivo de produzir material propagativo torna-se vantajoso, pois, além de permitir a coleta de ramos durante todo o ano, podem apresentar caráter juvenil e vigor vegetativo, características estas favoráveis ao enraizamento (OLIVEIRA et al., 2010). Segundo Hackett (1987), a juvenilidade é um fator importante em plantas lenhosas por afetar a capacidade de propagação vegetativa, além de proporcionar variações

nas taxas e formas de crescimento, na qualidade e rapidez na formação de raízes, e também mudanças fisiológicas e bioquímicas, com a transição para o estágio maduro.

Os tratos culturais e os cuidados com os jardins clonais são basicamente os mesmos praticados nos pomares comerciais que adotam bom nível de tecnologia, tais como: correção e adubação dos solos, acompanhamento fitossanitário, podas de limpeza e irrigação. As principais diferenças estão na densidade de plantio e na condução da poda, quando praticadas. Em jardins clonais, a densidade de plantio é determinada em razão do tempo e da intensidade de uso, uma vez que esses dois fatores regulam o estágio de desenvolvimento da copa, permitindo que se planeje o tempo de utilidade sem que haja comprometimento do manejo. Assim sendo, jardins clonais pouco solicitados devem ter densidades de plantio semelhantes aos da própria cultura, caso contrário, necessitarão constantemente de podas drásticas para não haver superposição de copa e dificuldades no manejo, que, além de onerarem o custo de manutenção, interrompem, temporariamente, o fluxo de oferta dos materiais propagativos. Por sua vez, à medida que se aumenta a demanda por propágulos e/ou diminui o tempo de utilidade dos jardins clonais - como nos casos em que o objetivo é somente dar apoio à implantação de um pomar -, a densidade de plantio deve ser aumentada. Isto possibilita economia de espaço, tempo e custo de manutenção. Quanto à poda, na condução de pomares, a sua aplicação melhora a qualidade dos frutos e aumenta a produtividade, por influenciar o mecanismo de redistribuição das reservas da planta. Já em jardins clonais, a poda é utilizada para aumentar o desenvolvimento de ramos com propágulos vigorosos (CAVALCANTI JÚNIOR, 2000a; 2000b).

A utilização de jardim clonal tem sido a forma mais aplicada no estabelecimento de áreas de multiplicação vegetativa. A partir de suas matrizes, podem ser retirados materiais para propagação mediante técnicas convencionais de propagação vegetativa, como estaquia e enxertia, ou explantes para o cultivo *in vitro*.

Almeida et al. (2010), trabalhando com a formação de jardim clonal de *Jatropha curcas* L., afirmam que a sua implantação, por meio da seleção de matrizes superiores, é necessária não apenas para se obter elevada produtividade, mas para acelerar o processo de domesticação da espécie e conservação da variabilidade para trabalhos que envolvam o melhoramento genético.

### 3.2 Minijardim clonal

O sistema de minijardim clonal apresenta como diferencial a redução da área e o aumento na produtividade de propágulos vegetativos (HIGASHI et al., 2000). Cada planta que compõe o minijardim clonal é chamada de minicepa. O termo “minijardim clonal”, usado na maioria dos viveiros do País, deve ser preferencialmente adotado em relação a “jardim miniclonal,” para que se forneça uma ideia de extensão menor da área ocupada em relação aos jardins clonais de campo. Enquanto os jardins clonais ficam instalados em campo e ocupam áreas de dezenas de hectares, os minijardins são estabelecidos em espaços menores (ALFENAS et al., 2004).

O estabelecimento do minijardim clonal permite melhor controle nutricional e fitossanitário, erradicação de plantas indesejáveis, que são altamente agressivas e competem por água, nutrientes e luz (ALFENAS et al., 2004). Além disso, reduz custos com transporte de pessoal e material a ser propagado.

O minijardim clonal pode ser implantado em diversos tipos de recipientes, que variam desde vasos de polipropileno de diferentes volumes, caixas de fibras de vidro de variadas formas e dimensões ou em canaletões de fibrocimento (HIGASHI et al., 2002; SILVEIRA et al., 2001). Neste sistema os substratos utilizados podem ser areia ou cascalho, por apresentarem características físicas e químicas adequadas para esta finalidade. Os nutrientes, por sua vez, são fornecidos por gotejamento a cada planta, regulando-se a concentração e a vazão de nutrientes, de modo a ter um excedente muito pequeno, que é recolhido por um sistema de drenagem ou descartado. Portanto,

o sistema pode ser fechado, onde a solução retorna ao sistema, ou senão aberto, onde a solução é descartada, o que reduz a possibilidade de disseminação de patógenos (HIGASHI et al., 2002).

Segundo Mafia et al. (2005), embora existam vários tipos de minijardins clonais, o estabelecimento de minicepas em canaletões de amianto ou concreto com leito de areia e fertirrigação por gotejamento é atualmente o mais empregado.

O sistema de minijardim clonal vem se desenvolvendo principalmente para espécies florestais, especialmente na silvicultura clonal do eucalipto (CARVALHO NETO, 2010; CUNHA et al., 2005; WENDLING; SOUZA JUNIOR, 2000).

### **3.3 Microjardim clonal**

A técnica de microestaquia desenvolveu-se buscando aproveitar ao máximo a juvenilidade dos propágulos vegetativos, para maximizar o enraizamento das microestacas no processo de propagação clonal. Nesse processo, o laboratório de micropropagação funciona como local de rejuvenescimento de clones selecionados para a produção de plantas que visam à formação do microjardim clonal, localizado no viveiro florestal (DUTRA et al., 2009; XAVIER et al., 2001). O microjardim clonal, constituído por microcepas, é o fornecedor de propágulos vegetativos (as microestacas) para o processo de produção de mudas, que é dependente das estruturas da casa-de-vegetação, casa-de-sombra e área de pleno sol, onde são realizadas as fases de enraizamento, aclimação e rustificação das mudas, respectivamente.

Deve ser ressaltado que, técnica e economicamente, a microestaquia apresenta vantagens sobre o método de estaquia convencional (macropropagação). Dentre essas vantagens, encontram-se o melhor desempenho de enraizamento, a melhor qualidade do sistema radicular, a maior velocidade de emissão das raízes, a eliminação do uso de fitorreguladores para promover o enraizamento e a redução das atividades operacionais (DANIEL, 2010; PELIZZA et al., 2011).

Basicamente, a microestaquia diferencia-se da miniestaquia pela origem do material que compõe o microjardim clonal. Na microestaquia as microcepas originam-se de mudas micropropagadas, e na miniestaquia as minicepas iniciais são formadas de mudas propagadas pela estaquia convencional (XAVIER et al., 2001). Além disso, em relação à macroestaquia, permite a eliminação do jardim clonal, disponibilizando assim a área para plantios comerciais.

A microestaquia também apresenta aspectos negativos como método de clonagem. Ferrari et al. (2004) citam a maior sensibilidade das microestacas às condições ambientais durante o enraizamento, principalmente oscilações drásticas de umidade relativa e temperatura, pelo fato das mesmas serem mais tenras que as estacas obtidas de minijardim ou jardim clonal. Outro fator limitante é a necessidade das mudas rejuvenescidas por micropropagação como ponto de partida para o processo. Assim, a implementação desta técnica é dependente da existência de laboratórios de cultura de tecidos vegetais, o que, além de limitar sua utilização, pode aumentar os custos de produção de mudas em razão dos gastos com rejuvenescimento dos clones *in vitro* (SANTOS, 2010).

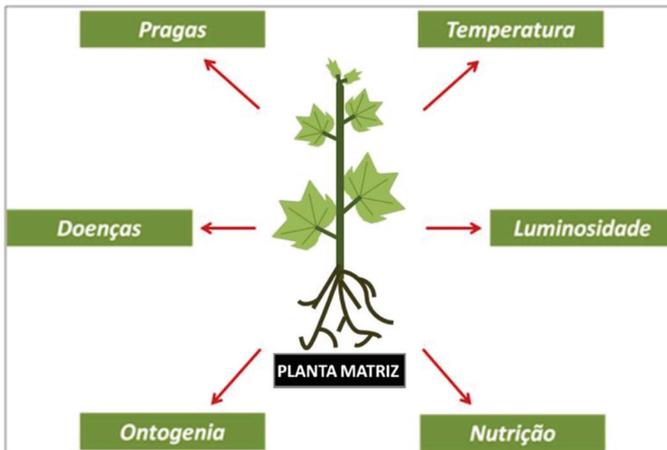
#### **4. Seleção e manutenção de plantas matrizes**

O grau de sucesso obtido na propagação vegetativa é influenciado por diversos fatores, como a espécie/clone, estação do ano, condições fisiológicas da planta matriz, variações nas condições climáticas, posição do propágulo na planta matriz, tamanho, tipo e hora de coleta do propágulo, meio de enraizamento, substâncias de crescimento, pelos produtos químicos aplicados, entre outros (WENDLING, 2004). No entanto, a seleção de matrizes apresenta-se como um dos aspectos mais relevantes a serem considerados.

Na seleção das matrizes, a planta da qual serão retiradas sementes ou outro material de propagação deverá estar em boas condições fisiológicas e fitossanitárias, ser vigorosa, com características

agronômicas superiores (produtividade, qualidade de frutos, sementes, etc.). Por condição fisiológica da planta matriz, entende-se o conjunto das características internas de uma planta, tais como o conteúdo de água, balanço hormonal, teor de reservas e nutrientes, por ocasião da coleta de material de propagação (FACHINELLO et al., 2005).

O manejo adequado e o estado nutricional são fatores importantes para a manutenção e vigor da planta fornecedora de propágulos (Figura 1). Tal estado vai determinar a quantidade de carboidratos e auxinas, entre outros compostos metabólicos, fundamentais à iniciação radicial e a velocidade em que esta ocorre (CUNHA et al., 2009).



**Figura 1.** Fatores inerentes à planta matriz que podem comprometer a exequibilidade da aplicação das técnicas de propagação vegetativa.

Ilustração: Marina M. de A. Silva.

O estado nutricional dos propágulos vegetativos tem sido correlacionado com o enraizamento. De modo geral, qualquer nutriente envolvido nos diversos processos metabólicos associados à diferenciação e formação do meristema radicular é essencial para a iniciação do processo de formação de raízes (BLAZICH, 1987; MALAVASI, 1994). A fertilização da planta matriz antes da coleta de estacas tem sido recomendada pelo fato dessa prática apresentar efeitos altamente significativos nos índices de enraizamento e na

velocidade de formação das raízes (BLAZICH, 1987). Além disso, com o aumento da idade da planta, ocorre redução nas taxas de divisão celular e capacidade regenerativa, resultando em um escasso enraizamento (WANG; ANDERSEN, 1989).

Dentre os fatores que podem aumentar a formação de raízes, destacam-se a presença de folhas na estaca, o uso de reguladores de crescimento, o estágio de desenvolvimento da planta e do próprio ramo, além da época do ano em que as estacas são coletadas (HARTMANN et al., 2002).

Embora o estiolamento seja definido pela total exclusão da luz, na propagação de plantas também pode ser caracterizado pelo crescimento de brotações em condições de sombreamento parcial (DAVIS et al., 1988). Para Hartmann et al. (2002), deve-se cultivar as plantas matrizes e efetuar o enraizamento sob baixa radiação, principalmente em espécies de difícil enraizamento.

Heller et al. (1994) constataram que o sombreamento moderado das plantas matrizes, da ordem de 50%, proporcionou 90% de enraizamento de estacas da ornamental *Coleonema aspalathoides*; enquanto estacas oriundas de matrizes em condições normais de luminosidade apresentaram 30% de enraizamento. Esses autores verificaram também que aumentos no sombreamento, de 75% e 87,5%, proporcionaram resultados inferiores, em virtude da menor quantidade de carboidratos nas estacas, decorrente da diminuição da atividade fotossintética. Assim, um maior índice de enraizamento é atribuído ao maior acúmulo de carboidratos ou à redução dos níveis de citocininas na estaca (WENDLING, 2004). Costa Junior et al. (2003), trabalhando com duas cultivares de goiabeira (*Psidium guajava* L.), também observaram melhor enraizamento de estacas retiradas de matrizes submetidas ao sombreamento (30%) em relação as que se encontravam a pleno sol, inferindo que o melhor desempenho dessas estacas pode estar relacionado às maiores concentrações de auxinas endógenas nos ramos, provocadas pelo sombreamento.

A umidade do solo via mecanismo de potencial hídrico ou déficit hídrico pode não apenas afetar a taxa fotossintética, mas também provocar redução da divisão celular dos tecidos meristemáticos da planta, afetando seu crescimento (ARAÚJO; CASTRO NETO, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2009). Desse modo, a importância do status hídrico da planta matriz antes da coleta dos propágulos de plantas lenhosas no enraizamento é de consenso, uma vez que influencia a turgidez dos tecidos. De acordo com Assis e Teixeira (1998), o estresse hídrico induz elevação nos conteúdos de ácido abscísico e etileno nas folhas, compostos considerados inibitórios no enraizamento. O estresse hídrico afeta também níveis endógenos de citocininas, mediante efeito direto na sua síntese e indireto pela redução do seu transporte para e dentro das folhas.

Portanto, para se garantir a viabilidade na aplicação das técnicas de propagação vegetativa, quando da seleção de material a partir de plantas matrizes, devem ser levados em consideração o genótipo (espécie/cultivar), o ambiente e o estado fisiológico aos quais estas plantas estão submetidas, incluindo condições de estresse (biótico e abiótico), temperatura, luminosidade (intensidade e fotoperíodo), estiolamento, quantidade de carboidratos, nutrição mineral, entre outros.

## **5. Plantas matrizes no cultivo *in vitro***

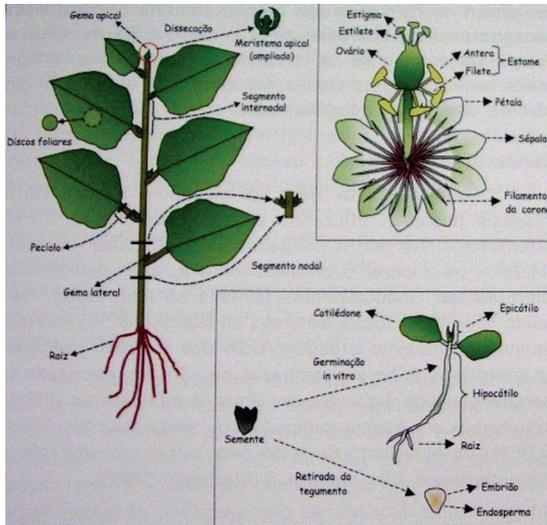
A micropropagação ou propagação *in vitro* é, dentre as técnicas de cultura de tecidos, a de maior aplicabilidade. Destina-se principalmente àquelas espécies que são de difícil propagação pelos métodos convencionais, permitindo a obtenção de grande número de plantas sadias e geneticamente uniformes em curto período de tempo (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; SOUZA et al., 2006; WENDLING et al., 2006).

Na década de 1970, quando a micropropagação recebeu grande impulso, Murashige (1974) apresentou o conceito de estágios de

desenvolvimento no processo de propagação *in vitro*. Este esquema, padrão para sistemas de micropropagação, divide-se resumidamente em: Estágio I - introdução ao cultivo asséptico; Estágio II - multiplicação dos propágulos; e Estágio III - enraizamento e transplântio das mudas obtidas. Além destes, o estágio 0 (zero) também tem sido sugerido por muitos autores, a partir da proposta inicial feita por Debergh e Maene (1981). Esse estágio corresponde ao tratamento dado à planta matriz, o qual pode ser considerado determinante para o sucesso da aplicação da técnica de micropropagação (GEORGE et al., 2008; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; WENDLING et al., 2006).

A planta matriz é aquela da qual serão retirados os explantes (Figura 2), ou seja, os segmentos de tecido ou órgão vegetal utilizado para iniciar a cultura *in vitro* (WILLADINO; CAMARA, 2005). Os cuidados com a planta matriz devem assegurar o seu bom estado fisiológico (nutricional e hídrico) e fitossanitário. A ontogenia e fisiologia da planta que é fonte de explantes têm uma profunda influência sobre a resposta *in vitro*, devendo-se utilizar explantes coletados de regiões meristemáticas juvenis. Além disso, eles devem ser retirados, preferencialmente, de plantas saudáveis e vigorosas que foram mantidas em crescimento ativo e que não estejam passando por qualquer tipo de estresse e ataque de pragas ou doenças, pois a sanidade da planta matriz é um importante fator no que tange à facilidade de descontaminação do explante no processo de isolamento (CARVALHO et al., 2006; GEORGE et al., 2008; WILLADINO; CAMARA, 2005).

A escolha do explante poderá ser influenciada por diversos fatores, tais como: disponibilidade de material, nível de contaminação, juvenildade do tecido e estação do ano (CID; TEIXEIRA, 2010). Explantes provenientes de sementes e partes juvenis de plantas adultas são preferencialmente mais utilizados, pois tecidos meristemáticos se desenvolvem mais rapidamente e são mais estáveis geneticamente (SOUZA et al., 2006). Tecidos maduros também podem ser cultivados (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998), no entanto, além de afetar o estabelecimento *in vitro*, a maturidade do explante quase sempre tem efeitos importantes sobre o crescimento e a morfogênese dos tecidos



**Figura 2.** Esquema de diferentes fases de desenvolvimento de plantas de maracujazeiro (*Passiflora* spp.), mostrando os diversos tipos de explantes que podem ser utilizados para se iniciar um cultivo *in vitro*.

Fonte: Junghans e Santos-Serejo, (2006).

e órgãos vegetais em cultura (GEORGE et al., 2008). Em estudos visando à formação de embriões de somáticos de *Gossypium hirsutum* L., foi preferível utilizar explantes (segmentos hipocotiledonares, epicótilo, discos foliares e cotilédones) de plantas matrizes obtidas pela germinação de sementes *in vitro* (AYDIN et al., 2010; KOUAKOU et al., 2007; RAO et al., 2006 SILVA et al., 2010). Essa estratégia permitiu a formação de uma matriz intacta, ou seja, os tecidos vegetais não sofreram agressões por parte de agentes esterilizantes, os quais, muitas vezes - dependendo de sua composição, dose e tempo de exposição ao tecido -, podem inviabilizar a resposta do explante, especialmente por promover oxidação fenólica (RIBEIRO et al., 2008). Plantas matrizes também foram obtidas por cultivo *in vitro* de embriões zigóticos de *Jatropha curcas* L. (NUNES et al., 2008) e *Ricinus Communis* L. (RIBEIRO et al., 2010). Em ambos os casos, foi retirado o tegumento (casca) da semente e realizada uma assepsia no endosperma, para posteriormente, em câmara de fluxo laminar, serem

excisados os eixos embrionários. Embora plantas matrizes estabelecidas *in vitro* sejam bastante utilizadas como fontes de explantes (Figura 3), estes podem ser retirados de matrizes mantidas em casa-de-vegetação. Em mamoneira, ápices caulinares foram retirados de plantas de 6 meses de idade, provenientes de programa de melhoramento genético (BERTOZZO; MACHADO, 2010); e em pinhão-manso, foram excisadas gemas axilares de plantas com 3 meses de crescimento (SHRIVASTAVA; BANERJEE, 2008). Antes de serem inoculados para dar início à propagação *in vitro*, os explantes passaram por processos de desinfestação.

Foto: Marina M. de A. Silva.



**Figura 3.** Plantas matrizes de *Gossypium hirsutum* L. (A) e *Ricinus communis* L. (B) obtidas por meio da germinação de sementes e cultivo de embriões zigóticos *in vitro*, respectivamente.

As matrizes fornecedoras de explantes devem ser mantidas nas melhores condições de limpeza e fertilidade possíveis, especialmente em virtude da grande influência das características destas plantas sobre o estabelecimento e crescimento das culturas *in vitro*. Para tal, recomenda-se que sejam cultivadas em condições controladas, onde possam receber tratamento fitossanitário e nutrição mineral adequada (WENDLING et al., 2006).

A condição fitossanitária da planta matriz é importante porque irá determinar a facilidade em descontaminar o explante durante seu isolamento. Apesar da realização do processo de desinfestação, diversos microrganismos de natureza endógena não são expostos aos agentes desinfestantes e devem ser controlados já na planta matriz (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Frequentemente plantas matrizes são rejeitadas por apresentarem doenças, sejam elas causadas por fungos, bactérias, vírus ou outros organismos. Tais problemas afetam não somente a introdução do material *in vitro* como também a qualidade final da muda (PASQUAL et al., 2010).

Uma das principais medidas a serem tomadas para garantir a qualidade fitossanitária das matrizes é fazer sua manutenção em ambiente limpo, como uma casa-de-vegetação ou câmara de crescimento, uma vez que no campo a planta está exposta a todo tipo de intempérie e insetos que provocam ferimentos e permitem a entrada de microrganismos. Deve-se evitar, portanto, que as estruturas de propagação e as mudas em formação estejam sujeitas ao inóculo vindo da planta matriz, dando continuidade ao processo infeccioso (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; REIS et al., 2009).

Em casa-de-vegetação consegue-se uma redução na exposição da planta a estresses bióticos e abióticos, além de permitir uma brotação mais intensa e, conseqüentemente, o aumento do rendimento de explantes por planta matriz. Os tratamentos fitossanitários têm por objetivo manter os agentes microbianos externos e internos, fitopatogênicos ou não, nos níveis mais baixos possíveis. Para tal, são utilizados agentes antimicrobianos de contato e sistêmicos, respectivamente. Uma vez reduzida a carga de agentes microbianos, aumentam as chances de estabelecimento dos explantes introduzidos no meio de cultura *in vitro* (WENDLING et al., 2006). Ademais, em algumas espécies, a indexação para alguns vírus deve ser realizada, a fim de se descartar materiais contaminados, que funcionariam como disseminadores de doenças. Em casos onde é necessária a eliminação do vírus por falta de materiais saudáveis, é imprescindível o cultivo de meristemas isolados para a limpeza clonal (SOUZA et al., 2006).

Outras medidas preventivas muito úteis são a manutenção das plantas em substrato esterilizado (pasteurizado, autoclavado ou fumigado), em vasos sem contato direto com o solo, de preferência sobre bancadas. A irrigação deve ser feita direta e exclusivamente no substrato, sem molhar as folhas, pois a irrigação por aspersão ou nebulização aumenta as chances de contaminação. A manutenção das plantas matrizes em casa-de-vegetação permite ainda o controle e a manipulação do fotoperíodo, da intensidade luminosa e da temperatura, visando a estimular novas brotações, independentemente da época do ano, ou simular períodos de vernalização nas plantas para obter explantes mais adequados (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; PASQUAL et al., 2010).

A planta matriz selecionada para fornecer os explantes deve estar nutricionalmente equilibrada, pois favorece seu crescimento vegetativo e facilita a retirada do material propagativo. Nos casos específicos de adubações de plantas matrizes, devem-se fazer análises tanto do solo como de folhas para obtenção de melhores resultados (PASQUAL et al., 2010). Devem-se procurar formulações que venham a favorecer o crescimento e vigor vegetativo, mantendo-se adequadas as relações NPK de acordo com as características de cultivo de cada espécie e/ou cultivar. Plantas adequadamente nutridas apresentarão melhor desempenho durante as etapas da micropropagação, em razão de um melhor balanço hormonal endógeno (WENDLING et al., 2006).

A maioria dos laboratórios comerciais de micropropagação surgiu agregada aos viveiros de companhias produtoras de mudas, com o objetivo de fornecer material propagativo livre de doenças, de acordo com as necessidades internas, ou de acelerar os métodos convencionais de propagação vegetativa (WENDLING et al., 2006). No Brasil, diversas empresas atuam na aplicação comercial da micropropagação, produzindo mudas, em larga escala, de cana-de-açúcar, abacaxizeiro, morangueiro, bananeira, amoreira, coqueiro, plantas ornamentais, entre outras (BASTOS; RIBEIRO, 2009). As plantas advindas do cultivo *in vitro* servem tanto para renovação de plantios como para implantação de matrizeiros.

A produção em larga escala de plantas matrizes, com qualidade genética e fitossanitária comprovadas, permitirá que os produtores renovem seus campos de matrizes, garantindo uma boa produtividade e alta qualidade de seus produtos (CETENE, 2009). Segundo Debiasi (2009), mudas micropropagadas, produzidas sob condições controladas em laboratório, representam uma alternativa para o produtor que busca investir em qualidade, reduzir os custos de manejo de pragas e doenças e ainda aumentar sua produtividade.

## 6. Referências Bibliográficas

- ALFENAS, A.C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e Doenças do Eucalipto**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2004.
- ALMEIDA, H. J. S.; VASCONCELOS, C. M. S.; MARINHO, A. J. R.; ROCHA, R. S.; SANTOS, R. D.; OLIVEIRA, R. J. V.; CARVALHO, R. J. P. Formação de jardim clonal de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) na fazenda escola de São Luis - MA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 4.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE OLEAGINOSAS ENERGÉTICAS, 1., 2010, João Pessoa. **Inclusão social e energia: anais**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 1724-1728.
- ARANTES, A. M. **Produção de mudas de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*) no perímetro irrigado de estreito, região sudoeste da Bahia**. 2004. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes)– Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.
- ARAÚJO, F. P.; CASTRO NETO, M.T. Influência de fatores fisiológicos de plantas-matrizes e de épocas do ano no pegamento de diferentes métodos de enxertia do umbuzeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 752-755, 2002.
- ASSIS, T. F.; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos**

**e transformação genética de plantas.** Brasília, DF: Embrapa – SPI; Embrapa - CNPH, 1998. p. 261-296.

AYDIN, Y.; TALAS-OGRAS, T.; ALTINKUT, A.; ISMAILOGLU, I.; ARICAN, E.; GOZUKIRMIZI, N. Cytohistological studies during cotton somatic embryogenesis with brassinosteroid application. **IUFS Journal of Biology**, v. 69, n. 1, p. 33-39, 2010.

BASTOS, D. C.; RIBEIRO, J. M. Aspectos gerais da produção de mudas frutíferas. In: BASTOS, D. C.; LEÃO, P. C. S.; SOUZA, P. M.; FOLLE, A. D. **Aspectos técnicos e legais para produção de mudas.** Fortaleza: Instituto Frutal, 2009.

BERTOZZO, F.; MACHADO, I. S. Meios de cultura no desenvolvimento de ápices caulinares de mamoneira (*Ricinus communis* L.) *in vitro*. **Ciênc. agrotec.**, v. 34, n. 6, p.1477-1482, 2010.

BLAZICH, F. A. Mineral nutrition and adventitious rooting. In: DAVIES, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings.** Portland: Dioscories Press, 1987. p. 61-69.

BRASIL. Decreto-Lei nº 5.153, de 23 de Julho de 2004. Aprova o Regulamento da Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003, que dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas - SNSM, e dá outras providências. [**Diário Oficial da República Federativa do Brasil**], Brasília, DF, 23 jul. 2004.

BRASIL. Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003. Dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas e dá outras providências. [**Diário Oficial da República Federativa do Brasil**], Brasília, DF, 5 ago. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 24, de 16 de dezembro de 2005 - Normas para Produção, Comercialização e Utilização de Mudas. [**Diário Oficial da República Federativa do Brasil**], Brasília, DF, 16 dez. 2005.

BUENO, S. C. S. Produção de mudas em ambiente protegido. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 3.; ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 2., 2006, Pelotas. **Palestras...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. (Série Documentos, 171).

CARVALHO, J. M. F. C.; ARAÚJO, S. S.; SILVA, M. A. **Preservação e intercâmbio de germoplasma.** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2008. 26 p. (Série Documentos, 196).

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A.; MEDEIROS, M. J. L. **Fatores inerentes à micropropagação.** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. 28 p. (Série Documentos, 148).

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A.; MEDEIROS, M. J. L. **Perda e Conservação dos Recursos Genéticos Vegetais.** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2009. 22 p. (Série Documentos, 221).

CARVALHO NETO, J. P. **Adubação NPK na produção de miniestacas de Eucalipto em solução nutritiva.** 2010. 40 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)– Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, MG, 2010.

CAVALCANTI JÚNIOR, A. T. **Formação dos jardins clonais na Embrapa Agroindústria Tropical.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000a. (Instruções Técnicas).

CAVALCANTI JÚNIOR, A. T. **Jardins clonais de cajueiro anão precoce irrigados e adensados.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000b. (Comunicado Técnico).

CAVALCANTI JÚNIOR, A. T.; BARROS, L. M. **Jardins clonais e jardins de semente para a produção de mudas de cajueiro.** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. (Série Documentos, 51).

CETENE. **Relatório Anual.** Recife, 2009.

CID, L. P. B.; TEIXEIRA, J. B. Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: CID, L. P. B. (Ed.) **Cultivo in vitro de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. p.15-49.

COSTA JÚNIOR, W. H.; SCARPARE FILHO, J. A.; BASTOS, D. B. Estiolamento da planta matriz e uso de ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de goiabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 2, p. 301-304, 2003.

CUNHA, A. C. M. C. M.; PAIVA, H. N.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Papel da nutrição mineral na formação de raízes adventícias em plantas lenhosas. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 58, p. 35-47, 2009.

CUNHA, A. C. M. C. M.; WENDLING, I.; SOUZA JUNIOR, L. Produtividade e sobrevivência de minicepas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et Cambage em sistema de hidroponia e em tubete. **Ciência Florestal**, v. 15, n. 3, p. 307-310, 2005.

DANIEL, O. **Silvicultura sustentável. Métodos e práticas**. Dourados, MS: UFGD, 2010.

DAVIS, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, 1988. v. 2, 315 p.

DEBERGH, P. C.; MAENE, L. J. A scheme for the commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Sci. Hortic.**, v. 14, p. 335-345, 1981.

DEBIASI, C. **Investimento em mudas micropropagadas, associado ao uso de cobertura plástica de canteiros pode garantir lucratividade na cultura do abacaxi**. Notícias 2009. Disponível em: <[http://www.sbwbrasil.com.br/news\\_br.htm](http://www.sbwbrasil.com.br/news_br.htm)> Acesso em: 15 nov. 2010.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de Eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 58, p. 49-59, 2009.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de Plantas Frutíferas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. 221 p.

FALEIRO, F. G. **Preservação da variabilidade genética de plantas: um grande desafio**. Disponível em: <<http://www.boletimpecuario.com.br/artigos/showartigo.php?arquivo=artigo350.txt&tudo=sim>>. Acesso em: 15 abr. 2008.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2004. (Série Documentos, 94).

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. J. **Plant propagation by tissue culture**. Dordrecht: Springer, 2008. v.1, p. 38-64.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa – SPI; Embrapa - CNPH, 1998. v. 1, p.183-241.

HACKETT, W. P. Donor plant maturation and adventitious root formation. In: DAVIES, T. D.; HAISSIG, B. E.; SANKHLA, N. **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Discorides, 1987. p.11-28.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002.

HELLER, A.; BOROCHOV, A.; HALEVY, A. H. Factors affecting rooting ability of *Coleonema aspalathoides*. **Scientia Horticulturae**, v. 58, p. 335-341, 1994.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. A evolução do jardim clonal na produção de mudas. **IPEF notícias**, v. 24, n. 148, p. 4-6, 2000.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. **Nutrição e adubação em minijardim clonal hidropônico de Eucalyptus**. Piracicaba: IPEF, 2002. (Circular Técnica nº 194).

HOPPE, J. M. **Produção de sementes e mudas florestais**. Santa Maria, RS: UFSM, 2004. (Caderno didático nº 1).

JUNGHANS, T. G.; SANTOS-SEREJO, J. A. Obtenção e manuseio de explantes. In: SOUZA, A. S.; JUNGHANS, T. G. **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. p. 99-114.

KOUAKOU, T. H.; WAFFO-TÉGUO, P.; KOUADIO, Y. J.; VALLS, J.; RICHARD, T.; DECENDIT, A.; MÉRILLON, J. M. Phenolic compounds and somatic embryogenesis in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Plant Cell Tiss Organ Cult**, v. 90, p. 25-29, 2007.

LIRA JÚNIOR, J. S. **Caracterização molecular, físico-química de frutos e fenológica do Banco de Germoplasma de cajá-umbú na Zona da Mata de Pernambuco**. 2005. 98 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)– Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2005.

LIRA JÚNIOR, J. S.; BESERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; SILVA JÚNIOR, J. F. **Pitangueira**. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, 2007. 87 p.

LONDRES, F. **A nova legislação de sementes e mudas no Brasil e seus impactos sobre a agricultura familiar**. 2006. Disponível em: <[http://www.redsemi.las.info/wp-content/uploads/2007/02/legislacao-sementes-e-mudas\\_br.pdf](http://www.redsemi.las.info/wp-content/uploads/2007/02/legislacao-sementes-e-mudas_br.pdf)>. Acesso em: 10 nov. 2010.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, E. M.; ZARPELON, T. G.; SIQUEIRA, L. Crescimento de mudas e produtividade de minijardins clonais de Eucalipto tratados com rizobactérias selecionadas. **Revista Árvore**, v. 29, n. 6, p. 843-851, 2005.

MALAVASI, U. C. Macropropagação vegetativa de coníferas: perspectivas biológicas e operacionais. **Floresta e Ambiente**, v. 1, n. 1, p. 131-135, 1994.

MIRANDA, L. C. **A lei de sementes e as suas implicações na produção e comercialização de sementes de feijoeiro comum**. 2008. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/conafe/conafeviii/pdf/palestra01.pdf>>. Acesso em: 10 nov. 2010.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 25, p. 135-166, 1974.

NAKASU, B. J. Y. Reprodução assexuada de plantas: Rosáceas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 1, n. 1, p. 33-38, 1979.

NUNES, C. F.; PASQUAL, M.; SANTOS, D. N.; CUSTÓDIO, T. N.; ARAÚJO, A.G. Diferentes suplementos no cultivo in vitro de embriões de pinhão-manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 9-14, 2008.

OLIVEIRA, A. F.; VIEIRA NETO, J.; VILLA, F.; SILVA, L. F. O. Desempenho de jardins clonais de oliveira obtidos por estaquia e enxertia em cortes sucessivos. **Scientia Agraria**, v. 11, n. 4, p. 299-305, 2010.

PAIVA, H. N.; GOMES, J. M. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 46 p. (Série cadernos didáticos, 83).

PASQUAL, M.; DUTRA, L. F.; ARAUJO, A. G.; PEREIRA, A. R. Prevenção de contaminações microbianas na cultura de células, tecidos e órgãos de plantas. In: SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. **Contaminações microbianas na cultura de células, tecidos e órgãos de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. p. 61-161.

PELIZZA, T. R.; DAMIANI, C. R.; RUFATO, A. R.; SOUZA, A. L. K.; RIBEIRO, M. F.; SCHUCH, M. W. Microestaquia em mirtilheiro com diferentes porções do ramo e substratos. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 319-324, 2011.

PEREIRA, D. P.; BANDEIRA, D. L.; QUINCOZES, E. R. F. **Produção de mudas de amora-preta por meio de cultura de tecidos**. Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2005. (Sistemas de Produção, 6).

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na Agropecuária**. 3. ed. Lavras, MG: UFLA, 2004. 472 p.

RAO, A. Q.; HUSSAIN, S. S.; SHAHZAD, M. S.; YASSIR, A. B.; RAZA, M. H.; RAKHA, A.; MAJEED, A.; SHAHID, A. A.; SALEEM, Z.; HUSNAIN, T.; RIAZUDDIN, S. Somatic embryogenesis in wild relatives of cotton (*Gossypium* Spp.). **J. Zhejiang Univ Sci B.**, v. 4, n. 4, p. 291-298, 2006.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; SEGALIN, M.; DEUNER, E.; CARMONA, M. Estratégias para a produção de material de propagação vegetal livre de patógenos. **Informativo ABRATES**, v. 19, n. 3, p. 19-36, 2009.

RIBEIRO, C. S. N.; SILVA, H.; SANTOS, J. W.; CARVALHO, J. M. F. C. Efeito do tiadiazuron na micropropagação in vitro de dois genótipos de mamona via organogênese. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 4, p. 366-371, 2010.

RIBEIRO, J. M.; CANUTO, K. M.; VESCHI, J. L. A. **Compostos clorados: aspectos gerais e sua utilização como agente sanitizante na agricultura, micropropagação e pecuária**. Petrolina, PE: Embrapa Semi-Árido, 2008. (Série Documentos, 207).

SANTOS, G. A. **Produção de mudas e viveiros florestais**. Disponível em: <[http://professor.fimes.edu.br/gildomar/files/2010/08/Sil\\_04\\_MudViveiros\\_CII.pdf](http://professor.fimes.edu.br/gildomar/files/2010/08/Sil_04_MudViveiros_CII.pdf)>. Acesso em: 20 nov. 2010.

SHRIVASTAVA, S.; BANERJEE, M. In vitro clonal propagation of physic nut (*Jatropha curcas* L.): Influence of additives. **International Journal of Integrative Biology**, v. 3, n. 1, p. 73-79, 2008.

SILVA, M. M. A.; MEDEIROS, M. J. L.; ARAÚJO, S. S.; FELISMINO, D. C.; CARVALHO, J. M. F. C. Indução de calos embriogênicos nas cultivares BRS Araripe e BRS Seridó do algodoeiro. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 1, p. 34-39, 2010.

SILVEIRA, R. L. V. A.; HIGASHI, E. N.; SGARBI, F.; MUNIZ, M. R. A. Seja doutor do seu eucalipto. **Informações agrônômicas**, Piracicaba, n. 93, p.1-31, 2001.

SOUZA, F. V. D.; JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S.; SANTOS-SEREJO, J. A.; COSTA, M. A. P. C. Micropropagação. In: SOUZA, A. S.; JUNGHANS, T. G. **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. p. 38-52.

SOUZA, A. S.; SOUZA, F. V. D.; SANTOS-SEREJO, J. A.; JUNGHANS, T. G.; PAZ, O. P.; MONTARROYOS, A. V. V.; SANTOS, V. S.; MORAIS, L. S. **Preservação de germoplasma vegetal, com ênfase na conservação *in vitro* de variedades de mandioca** Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. (Circular Técnica, 90).

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

VIEIRA, M. L. C. Conservação de germoplasma *in vitro*. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**. Brasília, DF, v.14, p.18-20, 2000.

WANG, Q.; ANDERSEN, A. S. Propagation of *Hibiscus rosasinensis*: relations between stock plant cultivar, age, environment and growth regulator treatments. **Acta Horticulturae**, v. 251, p. 289-309, 1989.

WENDLING, I. Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): Estado da arte e tendências futuras. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2004. 46 p.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. **Produção de mudas de espécies lenhosas**. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2006. (Série Documentos, 130).

WENDLING, I.; SOUZA JUNIOR, L. Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia. **Revista Árvore**, v. 24, p. 181-186, 2000.

WILLADINO, L.; CÂMARA, T. **Cultura de tecidos vegetais**. 2005.

Disponível em:

<<http://www.ufrpe.br/quimica/culttec.htm>>. Acesso em: 10 out. 2010.

XAVIER, A.; ANDRADE, H. B.; OLIVEIRA, M. L.; WENDLING, I. Desempenho do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 25, n. 4, p. 403-411, 2001.



**Embrapa**

---

**Algodão**



Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



CGPE 9955