



VOZES
DOS VALES
Publicações Acadêmicas UFVJM



Ministério da Educação – Brasil
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM
Minas Gerais – Brasil
Revista Vozes dos Vales: Publicações Acadêmicas
Reg.: 120.2.095 – 2011 – UFVJM
ISSN: 2238-6424
QUALIS/CAPES – LATINDEX
Nº. 08 – Ano IV – 10/2015
<http://www.ufvjm.edu.br/vozes>

Assepsia de explantescaulinares de eucalipto com fungicida sistêmico

Prof. MSc. Bruno Oliveira Lafetá
Mestre em Ciência Florestal pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e
Mucuri - UFVJM/MG - Brasil
Doutorando em Ciência Florestal na UFVJM/MG - Brasil
Docente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de
Minas Gerais - IFMG - Brasil
<http://lattes.cnpq.br/7137536896294497>
E-mail: bruno.lafeta@ifmg.edu.br

Tamires Mousslech Andrade Penido
Mestranda em em Ciência Florestal na UFVJM/MG - Brasil
<http://lattes.cnpq.br/9574491245202619>
E-mail: penidotma@gmail.com

Prof. Dr. Márcio Takeshi Sugawara
Doutor em Produção Vegetal pela Universidade Estadual do
Norte Fluminense - UENF/RJ - Brasil
Docente do IFMG - Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5069174971792948>
E-mail: marcio.takeshi@ifmg.edu.br

Paulo Modesto de Campos
Especialista em Fruticultura Comercial na Universidade
Federal de Lavras - UFLA/MG - Brasil
<http://lattes.cnpq.br/2607581728415785>
E-mail: paulo.campos@ifmg.edu.br

Resumo: As contaminações fúngicas são fatores limitantes para o sucesso da cultura de tecidos vegetais por laboratórios de pesquisa e para a produção de mudas em larga escala por biofábricas. O objetivo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de fungicida na proliferação de fungos e desenvolvimento de explantes caulinares de eucalipto. O material propagativo foi coletado em 10 mudas do clone 1528 híbrido de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*, produzidas via miniestaquia, no viveiro do IFMG – Campus São João Evangelista. Adotou-se DIC com quatro repetições, sendo estudado o efeito de cinco concentrações do fungicida sistêmico, à base de tiofanato metílico, Cercobin® 700 WP (T1 - 0,0 g.L⁻¹; T2 – 0,5 g.L⁻¹; T3 - 1,0 g.L⁻¹; T4 - 2,0 g.L⁻¹ e T5 - 4,0 g.L⁻¹). Avaliaram-se o número de explantes com fungo e emissões de caulículo e de primórdios foliares, além do índice de velocidade dos mesmos. Realizou-se análise de variância e regressão. À medida que concentrou a solução fungicida, aumentou o índice de velocidade de primórdios foliares. A concentração de 2,22 g.L⁻¹ do fungicida Cercobin® 700 WP propiciou maior índice de velocidade de caulículo. A incidência de fungos foi similar para as diferentes concentrações do fungicida em estudo.

Palavras-chave: Cultura de Tecidos. Crescimento. Fungos. Estabelecimento.

Introdução

No Brasil, o eucalipto é a principal espécie fornecedora de madeira e celulose, cujo cultivo pode ser afetado por várias doenças. Uma forma de controlar e evitar a disseminação das mesmas é através da propagação vegetativa (MAFIA, MARCHESI e AUN, 2012). Este método é empregado para a produção de clones, plantas genotipicamente idênticas à planta mãe.

A micropropagação é uma técnica de cultivo *in vitro* em condições assépticas, indicada para plantas de maior interesse econômico e científico (OLIVEIRA et al., 2011; PIATI, SCHNEIDER e NOZAKI, 2011). É uma alternativa quando métodos convencionais de propagação não são viáveis para regenerar plantas com dificuldades de reprodução natural (MACHADO, DESCHAMPS e BIASI, 2013; PIATI, SCHNEIDER e NOZAKI, 2011). Essa técnica tem contribuído para a limpeza clonal e conservação em bancos de germoplasma de espécies nativas e exóticas (COLOMBO et al., 2004).

Os fragmentos de tecido vegetal vivo, designados explantes, podem ser originados de porções de caules, folhas ou raízes, a escolha do melhor se dá pela disponibilidade de material vegetativo e da facilidade de sua obtenção. A indução do crescimento e proliferação de gemas vegetativas axilares pré-formadas através de segmentos nodais é um método direto de regeneração (PIATI, SCHNEIDER e

NOZAKI, 2011). As brotações formadas podem ser enraizadas *in vitro* ou *ex vitro*, possibilitando a propagação massal em progressão geométrica (BORGES et al., 2012; MACHADO, DESCHAMPS e BIASI, 2013; PIATI, SCHNEIDER e NOZAKI, 2011).

A produção em larga escala por meio de biofábricas comerciais tem sofrido com a contaminação de explantes, ou do meio de cultura por fungos e bactérias oportunistas (COLOMBO et al., 2004; NERY et al., 2008). As taxas de oxidação e contaminação dos tecidos na fase inicial do estabelecimento *in vitro* são elevadas, porém a desinfestação superficial de explantes oriundos de material juvenil e de plantas cultivadas em ambiente protegido é fácil (BORGES et al., 2012; DUTRA, WENDLING e BRONDANI, 2009; LONDE et al., 2007). Podendo ser influenciada por fatores exógenos e endógenos, na micropropagação deve-se ter o controle do genótipo, estado fisiológico da planta matriz, seleção, coleta e tipo de explante, assepsia, reguladores de crescimento, condições de incubação e habilidade do operador (BORGES et al., 2012; MACHADO, DESCHAMPS e BIASI, 2013). O manejo adequado de plantas matrizes e a seleção de explantes são essenciais para a obtenção de uma cultura livre de contaminantes e adaptada às condições *in vitro* (BORGES et al., 2012). Os métodos de desinfestação normalmente variam em função da época do ano, do tipo e origem do explante (DUTRA, WENDLING e BRONDANI, 2009).

Os fungicidas e antibióticos são normalmente empregados no controle de patógenos, mesmo que sejam limitados em virtude da toxicidade para as plantas (LONDE et al., 2007). O controle das contaminações por fungos pode ser realizado pela seleção de uma planta matriz de boa qualidade sanitária e pelo uso de fungicidas e bactericidas (PINHAL et al., 2011). Os fungicidas foliares sistêmicos benomyl, nome comercial benlate (metil -1butilcarbomoil - 2 - benzimidazol - carbamato, $C_{14}H_{18}N_4O_3$) e o tiofanato metílico, nome comercial Cercobin (*Dimetil 4,4'*- (o - fenileno) bis (3 - tioalofanato), $C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$) são amplamente difundidos na micropropagação (LONDE et al., 2007; MACHADO, DESCHAMPS e BIASI, 2013). Entretanto, ressalva-se que o ingrediente ativo benomyl, pertencente ao grupo químico dos benzimidazóis, se encontra proibido no país (SCHERWINSKI-PEREIRA, 2010). Desde que respeite as recomendações de uso dos mesmos, problemas com fitotoxicidade são minimizados.

Deste modo, a micropropagação é uma técnica promissora em programas de melhoramento florestal por viabilizar a clonagem massal de genótipos superiores (BORGES et al., 2012; PIATI, SCHNEIDER e NOZAKI, 2011). O cultivo *in vitro* de espécies lenhosas requer estudos mais específicos e o desenvolvimento de metodologias que atendam o controle asséptico dos explantes. Obter um tecido descontaminado sem conduzi-lo à morte é uma etapa de grande dificuldade durante a desinfestação (PINHAL et al., 2011). Os trabalhos que abordam esta desinfestação fornecem base para estudos de outras espécies cultivadas.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de fungicida no controle de microorganismos e desenvolvimento de explantes caulinares durante o estabelecimento *in vitro* de eucalipto.

Materiais e métodos

Foram selecionadas 10 mudas (altura de 20 a 35 cm, diâmetro do colo maior ou igual a 4 mm e com apenas uma haste principal) do clone 1528 híbrido de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden x *E. urophylla* S. T. Blake em maio de 2013, produzidas via ministaquia em tubetes redondos, rígidos e de polipropileno com fundo aberto (volume de 53 cm³) no sistema de canteiro suspenso. As mudas se encontravam no viveiro de mudas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – *Campus* São João Evangelista (IFMG/SJE). O clima da região é o temperado chuvoso-mesotérmico e classificado como Cwa pelo sistema de Köppen (com inverno seco e verão chuvoso), a precipitação média anual é de 1400 mm e a temperatura média anual de 21 °C (BRAGA et al., 1999).

As mudas foram transferidas para baldes de 20 L, onde permaneceram por 120 dias. Visando diminuir a contaminação *in vitro*, as mudas foram pulverizadas com o fungicida sistêmico Cercobin® 700 WP, com 70,0 % do ingrediente ativo tiofanato metílico, aos 90 e 105 dias após transferência. Definiram-se 2 L de solução por aplicação e a dosagem do fabricante para a maioria das culturas agrícolas de 0,7 g.L⁻¹.

A coleta dos brotos foi realizada no terço mediano das copas com auxílio de uma tesoura (Figura 1). O material experimental se encontrava sadio e livre de injúrias, atrofias ou ataque de fitopatógenos. Este material foi acondicionado em

bandeja de polietileno contendo uma solução de hipoclorito de sódio (2 gotas/L de água deionizada) e conduzido ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do IFMG/SJE. Os brotos foram previamente lavados em água corrente.



Figura 1 – Coleta dos brotos no terço mediano das copas de mudas do clone 1528 híbrido de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo estudado o efeito de cinco concentrações do fungicida sistêmico, à base de tiofanatometílico, Cercobin® 700 WP (T1 - 0,0 g.L⁻¹; T2 – 0,5 g.L⁻¹; T3 - 1,0 g.L⁻¹; T4 - 2,0 g.L⁻¹ e T5 - 4,0 g.L⁻¹). Os brotos foram imersos por 15 minutos em solução fungicida acrescida com Tween 20 (3 gotas.100 ml de solução⁻¹) e, posteriormente, lavados em água deionizada e autoclavada.

O meio de cultura utilizado foi composto pelos sais básicos de MS força total (MURASHIGE e SKOOG, 1962) e vitaminas de White (1943), acrescidos de mio-inositol (100 mg.L⁻¹), polivinilpirrolidona (1000 mg.L⁻¹), sacarose (30 g.L⁻¹), ágar bacteriológico ISOFAR (6 g.L⁻¹), 0,5 mg.L⁻¹ de BAP (6-benzil-amino-purina) e 1 mg.L⁻¹ de ANA (ácido naftaleno acético), com pH ajustado para 5,75 ± 0,05. O meio de cultura foi autoclavado por 20 minutos à temperatura de 121 °C e pressão de 1 atm. Cada unidade experimental foi constituída por 10 frascos de aproximadamente 100 ml contendo, cerca de 10 mL da cultura previamente preparada.

Em câmara de fluxo laminar, os brotos foram desinfestados em álcool (70 %) durante 1 minuto, em hipoclorito de sódio (NaClO) a 1,0 % acrescido de Tween 20 (2 gotas.100 ml de solução⁻¹) durante 15 minutos e depois, lavados em água deionizada e autoclavada.No mesmo ambiente, obtiveram-se segmentos caulinares de, aproximadamente, 1 cm de comprimento contendo um nó e uma gema axilar (Figura 2). Inoculou-se um segmento por frasco, o qual foi vedado com tampa própria. Após a inoculação,os segmentos foram mantidos em sala de Cultura por 7 dias no escuro a 25 ± 2 °C e depois, sob fotoperíodo de 16 horas luz e 8 horas escuro na mesma temperatura.



Figura 2 – Segmento caulinar do clone 1528 híbrido de *Eucalyptusgrandis* x *E. urophyllade*, aproximadamente, 1 cm de comprimento contendo um nó e uma gema axilar inoculado em frasco de 100 ml com meio de cultivo MS.

As avaliações foram realizadas diariamente e até a contagem final (vigésimo sexto dia), registrando o número de explantes contaminados por *Fusarium* sp. (F) e *Aspergillus* sp. (A), além daqueles que emitiram Caulículo(C) e Primórdios Foliares (PF). Calculou-se para todos os atributos avaliados o índice de velocidade empregando uma adaptação da fórmula de Maguirre (1962):

$$IV_x = \frac{N_1}{D_1} + \frac{N_2}{D_2} + \dots + \frac{N_n}{D_n}$$

em que:

x = atributo avaliado (*Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., caulículo e primórdios foliares);

N_1 = número de explantes que apresentaram a característica x na 1^o contagem;

D_1 = número de dias para a 1^o contagem;

N_n = número de explantes que apresentaram a característica x na última contagem;

D_n = número de dias para a última contagem (vigésimo sexto dia).

Os resultados expressos em porcentagem da emissão de primórdios foliares e das incidências de *Fusarium* sp. e de *Aspergillus* sp. foram transformados em $\text{arc sen } \sqrt{x/100}$ a fim de atender aos critérios de normalidade segundo teste de Lilliefors e homogeneidade por Cochran (BANZATTO e KRONKA, 2006; RIBEIRO JÚNIOR, 2012). O resultados obtidos para os IV's das emissões de caulículo e de *Aspergillus* sp. foram transformados em \sqrt{x} , também, para atender a esses critérios. Realizaram análise de variância, regressão e teste t pareado, todos a 5,0 % de significância estatística. Na análise de regressão, foi empregado o método dos Mínimos Quadrados Ordinários (MQO). A análise estatística foi realizada com auxílio dos softwares Excel® e SISVAR (FERREIRA, 2011).

Resultados e discussão

O efeito estatístico significativo pelo teste F ($p < 0,05$) para tratamento foi observado somente para os IV's das emissões de caulículo e de primórdios foliares (Quadro1). As concentrações do Cercobin® 700 WP não influenciaram as incidências de *Aspergillus* sp. e de *Fusarium* sp. no material experimental. O fungicida, mesmo que sistêmico, não interferiu na frequência e homogeneidade da contaminação dos explantes. Ressalta-se que fungicidas sistêmicos do grupo dos benzimidazóis como o tiofanato metílico, thiabendazole e carbendazin são frequentemente empregados no controle assépticos de explantes vegetais (ALMEIDA; YARA e ALMEIDA, 2005; GOULART e FIALHO, 1999).

Quadro 1 – Resumo da análise de variância com os dados transformados (exceto SC, IV_{SC} e IV_F) dos atributos avaliados no estabelecimento *in vitro* de explantes caulinares de eucalipto

F.V.	G.L.	Q.M.							
		C	PF	F	A	IV _C	IV _{PF}	IV _F	IV _A
Tratamentos	4	770,0 ^{ns}	604,0 ^{ns}	337,1 ^{ns}	38,7 ^{ns}	8,8 [*]	1,2 [*]	0,3 ^{ns}	0,1 ^{ns}
Resíduo	15	660,0	340,6	207,9	80,7	0,8	0,2	0,2	0,1
CV _{exp} (%)		52,43	58,29	18,03	37,47	43,76	58,80	18,20	67,96

* ($p < 0,05$). ^{ns} ($p > 0,05$). CV_{exp} = Coeficiente de variação experimental. C = Caulículo. PF = Primórdios foliares. F = Incidência de *Fusarium* sp. A = Incidência de *Aspergillus* sp. IV_{SC} = índice de velocidade de caulículo. IV_{PF} índice de velocidade de primórdios foliares. IV_F = índice de velocidade da incidência de *Fusarium* sp. IV_A = índice de velocidade da incidência de *Aspergillus* sp.

Observou-se regressão somente para os IV's das emissões de caulículo e de primórdios foliares, cujos parâmetros foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$) (Figura 3). Isto demonstra a dependência desses atributos quanto a variações na concentração do Cercobin® 700 WP. Os valores estimados pelas equações foram semelhantes aos observados pelo teste *t* ($p > 0,05$). Isto possui grande importância prática, pois podem ser utilizadas como ferramenta de apoio por melhoristas com o propósito de maximizar a homogeneidade e reduzir o tempo necessário para a produção de mudas.

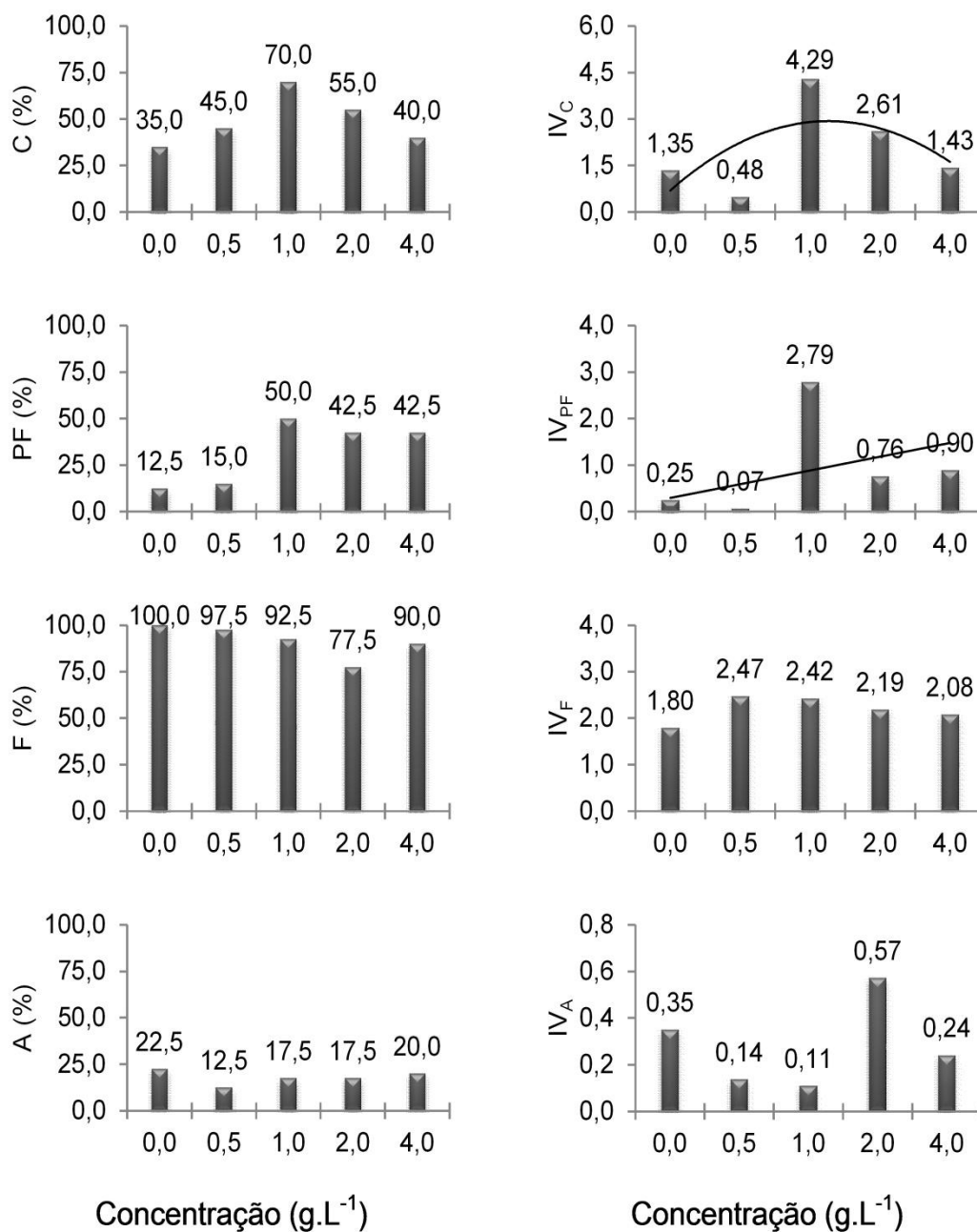


Figura 3 – Representação gráfica dos atributos avaliados no estabelecimento *in vitro* de explantes caulinares de eucalipto. C = Caulículo. PF = Primórdios foliares.

F = Incidência de *Fusarium sp.* A = Incidência de *Aspergillus sp.* IV_C = índice de velocidade de caulículo. IV_{PF} índice de velocidade de primórdios foliares. IV_F = índice de velocidade da incidência de *Fusarium sp.* IV_A = índice de velocidade da incidência de *Aspergillus sp.* “IV_{SC} = 3,2182*C – 0,7237*C²”, $\bar{R}^2 = 0,62$ e $\varepsilon = 1,48$; “IV_{PF} = 0,3729*C”, $\bar{R}^2 = 0,19$ e $\varepsilon = 1,38$; em que “C” foi a concentração do fungicida sistêmico (g.L⁻¹).

Oscilações nos IV's das incidências de *Aspergillus* sp. e de *Fusarium* sp. foram verificadas. Foi observada uma alta contaminação por fungos (acima de 25 %). Isto está coerente para a fase de estabelecimento *in vitro* e corrobora com os resultados obtidos por Almeida, Martins e Dutra (2008), que trabalharam com a desinfestação de segmentos nodais de *Eucalyptus dunnii*. É importante considerar que a assepsia é essencial para a obtenção de uma cultura livre de contaminantes e adaptada às condições *in vitro* (BORGES et al., 2012). Além disso, plantas saudáveis são normalmente menos suscetíveis à incidência de fitopatógenos.

Maiores concentrações do detergente empregado (Tween 20) podem ser indicadas para aumentar a superfície de contato entre solução fungicida e explante. Entretanto, deve-se tomar cautela ao empregar concentrações de fungicida superiores às recomendadas pelo fabricante para evitar problemas de fitotoxicidade e maximizar sua eficiência (LONDE et al., 2007; MACHADO, DESCHAMPS e BIASI, 2013). Salieta-se que não foram verificados problemas com fitotoxicidade pelo presente trabalho (Figura 3).

O índice de velocidade de emissão de primórdios foliares aumentou à medida que concentrou a solução fungicida. Maior indução da divisão celular, diferenciação e expressão de primórdios foliares foram observados nas primeiras contagens na concentração de 1,0 g.L⁻¹ do Cercobin® 700 WP. A emissão destes primórdios seguiu o padrão típico de proliferação de gema axilar (Figura 4), conforme descrito por Xavier; Wendling e Silva, 2013.



Figura 4 – Emissão de um segmento de caulículo com primórdios foliares no ápice em explantes caulinares do clone 1528 híbrido de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*.

Ao igualar a zero a primeira derivada do ajuste realizado para o IV da emissão de caulículo foi obtido o valor de 3,58 na concentração ótima de $2,22 \text{ g.L}^{-1}$ do Cercobin® 700 WP. Embora este fungicida tenha apresentado ineficiência no controle fúngico, o mesmo pode estimular o vigor e a velocidade das emissões dos galhos e primórdios foliares em explantes caulinares de eucalipto. Resultados estes, provavelmente, influenciados pela atuação sistêmica do fungicida, podendo ter afetado de forma direta ou não o metabolismo vegetal. AMARO (2011) estudando os fungicidas azoxistrobina (60g.ha^{-1}), boscalid (50g.ha^{-1}), piraclostrobina (50g.ha^{-1}) e boscalid (100g.ha^{-1}) + piraclostrobina (50 ha^{-1}), ambos aplicados via foliar, concluiu que os mesmos apresentaram efeitos fisiológicos positivos nas plantas de pepino japonês enxertadas e não enxertadas em ambiente protegido tipo arco.

Os resultados do presente trabalho podem fornecer subsídios importantes para pesquisas posteriores sobre assepsia na micropropagação de espécies vegetais e produção de mudas. Espera-se que a continuidade dos estudos com o cultivo *in vitro* destematerial genético, principalmente no sentido da definição de um melhor fungicida ou bactericida, possa ser utilizado para diversas espécies de interesse florestal.

Conclusões

A incidência de fungos foi similar para as diferentes concentrações do fungicida Cercobin® 700 WP em estudo.

As concentrações do fungicida Cercobin® 700 WP não foram eficientes no controle de *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp.

À medida que concentrou a solução fungicida, aumentou o índice de velocidade de primórdios foliares de eucalipto. A concentração de 2,22 g.L⁻¹ do fungicida Cercobin® 700 WP propiciou maior índice de velocidade de emissão caulículo.

Agradecimentos

Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Minas Gerais - *Campus* de São João Evangelista-MG por todo apoio logístico e financeiro para a realização do presente trabalho.

Referências

- ALMEIDA, Cristina Vieira de; YARA, Ricardo e ALMEIDA, Marcílio. Fungos endofíticos isolados de apices caulinares de pupunheira cultivada *in vivo* e *in vitro*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40(5): p. 467, 470, 2005.
- ALMEIDA, Juliana Rodrigues de; MARTINS, Carlos Roberto e DUTRA, Leonardo. Desinfestação de segmentos nodais de *Eucalyptus dunnii* visando estabelecimento *in vitro*. *Revista da FZVA*, 15(1):p. 54-60, 2008.
- AMARO, Amanda Cristina Esteves. *Efeitos fisiológicos de fungicidas no desenvolvimento de plantas de pepino japonês enxertadas e não enxertadas, cultivadas em ambiente protegido*. 2011. 86f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2011.
- BANZATTO, David Arioaldo e KRONKA, Sérgio do Nascimento. *Experimentação agrícola*. 4. Ed. Jaboticabal: Funep, 2006, 237p.
- BORGES, Silvano Rodrigues; XAVIER, Aloisio; OLIVEIRA, Leandro Silva de; LOPES, Aline Pontes; OTONI, Wagner Campos; TAKAHASHI, Elizabete Keiko e MELO, Lucas Amaral de. Estabelecimento *in vitro* de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. *Ciência Florestal*, 22(3): p. 605-616, 2012.
- BRAGA, Franciso de Assis; BARROS, Nairam Félix de Barros; SOUZA, Agostinho Lopes de e COSTA, Liovando Marciano da. Características ambientais determinantes da capacidade produtiva de sítios cultivados com eucalipto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 23: p. 291-298, 1999.
- COLOMBO, Larissa Abgariani; FARIA, Ricardo Tadeu de; CARVALHO, Jane Fiúza Rodrigues Portela de; ASSIS, Adriane Marinho de e FONSECA, Inês Cristina de Batista. Influência do fungicida clorotalonil no desenvolvimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de duas espécies de orquídeas brasileiras. *Acta Scientiarum*, v. 26(2): 253-258, 2004.
- DUTRA, Leonardo Ferreira; WENDLING, Ivar e BRONDANI, Gilvano Ebling. A micropropagação de eucalipto. *Pesquisa Florestal Brasileira*, (58): p. 49-59, 2009.
- FERREIRA, Daniel Furtado. F. *S/SVAR*. Versão. 4.3. Lavras: DEX/UFLA, 2003.
- GOULART, Augusto César Pereira e FIALHO, Werlaine Fátima Basso. Incidência e controle de *Fusarium moniliforme* Sheldon em sementes em milho. *Revista Brasileira de Sementes*, 21(1): p. 216-22, 1999.
- LONDE, Luciana Nogueira; SOUSA, Cristina Soares; VIEIRA, Carlos Ueira; BONETTI, Ana Maria e KERR, Warwick Estevam. E. Efeito de benomyl e identificação de fitopatógenos em meio MS para controle da contaminação na micropropagação de *Anacardium humile* (Anacardiaceae). *Bioscience Journal*, 23(3): p. 94-100, 2007.

MACHADO, Marília Pereira; DESCHAMPS, Cícero e BIASI, Luiz Antonio. Application of IBA on *in vitro* and *ex vitro* rooting microcutting of *Lavanda angustifolia* Miller. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 4(2): p.153-161, 2013.

MAFIA, Reginaldo Gonçalves; MARCHESI, Helen Pacheco e AUN, Cristina Pierroti. Avaliação de clones de eucalipto para resistência à ferrugem em condições de micropropagação. *Revista Árvore*, 36(5): p. 843-849, 2012.

MAGUIRE, James Dale. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. *Crop Science*, 2(2): p. 176-177, 1962.

MURASHIGE, Toshio e SKOOG, Folke. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: p.473-497, 1962.

NERY, Marcela Carlota; CARVALHO, Maria Laene Moreira de; OLVEIRA, Luciana Magda de; NERY, Fernanda Carlota e SILVA, Débora Gabriela Germinação *in vitro* e *ex vitro* de embriões/sementes de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich. *Cerne*, 14(1): p. 1-8, 2008.

OLIVEIRA, Mila Liparize; XAVIER, Aloisio; PENCHEL FILHO, Ricardo Miguel; OTONI, Wagner Campos e TEIXEIRA, João Batista. Efeitos do meio de cultura e da relação BAP/ANA na multiplicação *in vitro* de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* em biorreator de imersão temporária. *Revista Árvore*, 35(6): p. 1207-1217, 2011.

PIATI, Andréia; SCHNEIDER, Cristina Fernanda e NOZAKI, Márcia de Holanda. Efeito *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre o crescimento e desenvolvimento de *Penicillium* sp. *Semina: Ciências Agrárias*, 32(3): p. 1033-1040, 2011.

PINHAL, Hernane Fernandes; ANASTÁCIO, Maristela Rosália; CARNEIRO, Pedro Augusto Porto; SILVA, Valdiney José da; MORAIS, Tâmara Prada de e LUZ, José Magno Queiroz. Aplicações da cultura de tecidos vegetais em frutíferas do Cerrado. *Ciência Rural*, 41(7): p. 1136-1142, 2011.

RIBEIRO JÚNIOR, José Ivo. *Métodos estatísticos aplicados à melhoria da qualidade*. 1 ed., Viçosa: Editora UFV., 2012, 385p.

SCHERWINSKI-PEREIRA, Jonny Everson. *Contaminações microbianas na cultura de células e órgãos de plantas*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010, 446p.

WHITE, Philip R. Further evidence on the significance of glycine, pyridoxine and nicotinic acid in the nutrition of excised tomato roots. *American Journal of Botany*, 30: p.33-36, 1943.

XAVIER, Aloisio; WENDLING, Ivar e SILVA, Rogério Luiz da Silva. *Silvicultura Clonal: Princípios e Técnicas*. 2. ed. Viçosa: UFV, 2013, 279p.

Texto científico recebido em: 09/09/2015

Processo de Avaliação por Pares: (*Blind Review* - Análise do Texto Anônimo)

Publicado na Revista Vozes dos Vales - www.ufvjm.edu.br/vozes em: 24/11/2015

Revista Científica Vozes dos Vales - UFVJM - Minas Gerais - Brasil

www.ufvjm.edu.br/vozes

www.facebook.com/revistavozesdosvales

UFVJM: 120.2.095-2011 - QUALIS/CAPES - LATINDEX: 22524 - ISSN: 2238-6424

Periódico Científico Eletrônico divulgado nos programas brasileiros *Stricto Sensu*

(Mestrados e Doutorados) e em universidades de 38 países,

em diversas áreas do conhecimento.