

ENRAIZAMENTO *EX VITRO* E ACLIMATIZAÇÃO DE PLANTAS MICROPROPAGADAS DE *Tectona grandis*

Paulo César Poeta Fermino Júnior¹, Andrea Raposo², Jonny Everson Scherwinski-Pereira³

¹Biólogo, Dr., Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, UFAC, Rio Branco, AC, Brasil - paulofermino@ufac.br

²Bióloga, Dr^a., Embrapa Acre, Rio Branco, AC, Brasil - andrea@cpafac.embrapa.br

³Eng. Agrônomo, Dr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil - jonny@cenargen.embrapa.br

Recebido para publicação: 18/03/2010 – Aceito para publicação: 22/07/2010

Resumo

O enraizamento de espécies arbóreas é bastante complexo devido à maturidade dos tecidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de AIB no enraizamento *ex vitro* de brotos micropropagados a partir de plantas jovens de *Tectona grandis* L. em dois substratos, bem como da porção do broto para enraizamento. Foram utilizados brotos multiplicados *in vitro* inteiros, ou excisados ao meio (porção apical e basal), submetidos a imersão por 10 segundos em soluções contendo diferentes concentrações de AIB (0, 100, 1000, 2000, 4000 mg.L⁻¹) e plantados em bandejas plásticas contendo vermiculita ou Plantmax® como substratos. O enraizamento *ex vitro* ocorreu em todos os tratamentos, inclusive na ausência de AIB. O maior número de raízes e o maior crescimento relativo do caule foram observados para os tratamentos com o uso de AIB, em ambos os substratos. O enraizamento ocorreu em 100% dos explantes de origem apical e basal, em ambos os substratos. O enraizamento *ex vitro* de brotos micropropagados de *T. grandis* é viável a partir de plantas jovens, e a taxa de multiplicação é duplicada com o seccionamento dos brotos em porções apical e basal.

Palavras-chave: Teca; produção de mudas; micropropagação; condição *ex vitro*; porção do broto.

Abstract

Ex vitro rooting and acclimatization of micropropagated plantlets of *Tectona grandis*. The rooting of tree species is very complex due to the maturation of tissues. The objective of this study was to evaluate the effect of IBA on *ex vitro* rooting of micropropagated shoots from juvenile plants of *Tectona grandis* L. into two substrates, as well as the portion of the shoot to root. Shoots multiplied *in vitro* were used with whole or excised shoots (apical and basal) submitted to immersion for 10 seconds in solutions of IBA (0, 100, 1000, 2000, 4000 mg.L⁻¹) and planted in plastic trays containing vermiculite or Plantmax® as substrates. The *ex vitro* rooting occurred in all treatments, even in the absence of IBA. The largest number of roots and higher relative growth of the stem were observed in all treatments with IBA in both substrates. The survival of acclimatized plantlets occurred in all treatments. Rooting occurred in 100% of explants from apical and basal origin in both substrates. The *ex vitro* rooting of micropropagated shoots of *T. grandis* is feasible from juvenile plants and the multiplication rate is duplicated when shoots are cut in apical and basal portions.

Keywords: Teak; seedlings; micropropagation; *ex vitro* condition; portion of the shoot.

INTRODUÇÃO

Tectona grandis L. é conhecida popularmente como teca, sendo uma espécie arbórea tropical, nativa da Índia, Laos e Tailândia, com alto valor de mercado por suas características de madeira fina e resistente (GYVES *et al.*, 2007). No Brasil, os plantios de teca iniciaram-se no final da década de 1960, implantados pela empresa Cáceres Florestal S.A., na região do município de Cáceres, em Mato Grosso (TSUKAMOTO FILHO *et al.*, 2003). Na região Norte do Brasil, os plantios com teca (*T. grandis*) tiveram início em 1994, com a finalidade de cumprir a reposição florestal, obrigatória, em atendimento à legislação ambiental vigente (FIGUEIREDO *et al.*, 2005), e desde o princípio do cultivo, a necessidade de obtenção de mudas de alta qualidade genética e fitossanitária faz-se necessária. A utilização da micropropagação possibilita a produção em larga escala de indivíduos com qualidades desejáveis. O cultivo de teca por estaquia e por sementes é amplamente difundido nos trópicos (YASODHA *et al.*,

2004). A produção de mudas a partir de sementes é pouco eficiente, pois a quantidade de sementes produzidas por árvore é reduzida, e as taxas de germinação podem variar de 20 a 35% (HEDEGART, 1974; MONTEUUIS; MAITRE, 2007).

A micropropagação de teca tem sido relatada por diversos autores (GUPTA *et al.*, 1980; KHATRI *et al.*, 2001; TIWARI *et al.*, 2002; SHIRIN *et al.*, 2005; GYVES *et al.*, 2007; AKRAM; AFTAB, 2008; FERMINO-JR. *et al.*, 2009), através da multiplicação de segmentos nodais. Na maioria dos laboratórios comerciais de micropropagação de teca na Indonésia, o enraizamento é feito *ex vitro*, devido à baixa frequência de enraizamento *in vitro*, resultando num processo total mais longo (TIWARI *et al.*, 2002; YASODHA *et al.*, 2005). Estudos de enraizamento *ex vitro* de teca com genótipos estabelecidos não existem no Brasil.

O enraizamento de brotos micropropagados é uma etapa realizada classicamente *in vitro* (ÁLVARES *et al.*, 1989; HARBAGE; STIMART, 1996; DE KLERK *et al.*, 1997), aumentando, contudo, os custos de produção (FERRI *et al.*, 1998). Além disso, as raízes produzidas *in vitro* geralmente não sobrevivem após a transferência das plantas para o estágio de aclimatização (McCLELLAND *et al.*, 1990).

O enraizamento *ex vitro* diretamente no substrato apresenta como vantagens a diminuição das dificuldades associadas à sobrevivência na aclimatização e a redução dos custos de produção da micropropagação (AUGUSTO *et al.*, 2006), em relação ao enraizamento *in vitro*.

A etapa de aclimatização, que sucede o enraizamento, exige que as plantas produzam novas raízes em substratos porosos, com condições físicas e nutricionais adequadas (PEDROTTI; VOLTOLINI, 2001). Como estratégias adaptativas, as plantas aclimatizadas devem desenvolver mecanismos de controle da transpiração e condutância estomática (DIAZ-PEREZ *et al.*, 1995; POSPISILOVÁ *et al.*, 1999), ativar os mecanismos de controle de perda de água pelas células (SUTTER, 1988) e aumentar a taxa fotossintética em condições de atmosfera mais rica em CO₂ (VANTELGEN *et al.*, 1992).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o enraizamento *ex vitro* de teca (*Tectona grandis* L.) estabelecida na Amazônia Sul-Ocidental sob diferentes concentrações de AIB em diferentes condições de substratos e avaliar o efeito da porção seccionada do broto desenvolvido no cultivo *in vitro* (metade apical ou metade basal), para o enraizamento *ex vitro* visando aumento de taxa de multiplicação na micropropagação.

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram realizados no Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular (LABMOL) da Embrapa Acre. Inicialmente, sementes de plantas matrizes de *Tectona grandis* L. foram coletadas na área experimental da Embrapa Acre, localizada no km 12 da BR-364, no município de Rio Branco, AC, para obtenção de explantes.

Após 30 dias da germinação *in vitro*, segmentos nodais (2 cm) foram excisados e inoculados em frascos de vidro (30 mL) com meio de cultura WPM (LLOYD; MCCOWN, 1981) suplementado com sacarose (30 g.L⁻¹), ágar (6 g.L⁻¹) e 0,5 mg.L⁻¹ de BAP + 0,1 mg.L⁻¹ de ANA. A cultura foi mantida em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 h de luz, com 38 μmol.m⁻².s⁻¹ de fótons e temperatura de 23±2 °C. Brotos multiplicados foram obtidos após 60 dias de cultura *in vitro* e posteriormente submetidos aos experimentos de enraizamento *ex vitro*. Os brotos multiplicados *in vitro* com comprimento da parte aérea aproximada de 2,5 cm foram excisados da base do explante com bisturi e lavados em água corrente (2 minutos), para a remoção total do meio de cultura aderido.

Para o experimento de avaliação do efeito de diferentes concentrações de AIB no enraizamento *ex vitro*, foi utilizada a técnica de imersão rápida da base dos explantes (brotos) em solução indutora por 10 segundos. As soluções indutoras de enraizamento apresentavam as seguintes concentrações: 0, 100, 1000, 2000 e 4000 mg.L⁻¹ de AIB em água destilada.

Em seguida, os brotos foram plantados em bandejas plásticas transparentes com tampa perfurada, contendo substrato Plantmax® (Eucatex, São Paulo, BR) ou vermiculita (granulação média) autoclavado, com solução de meio de cultura WPM (LLOYD; MCCOWN, 1981) isento de sacarose e de fitoregulador. Para avaliar o efeito da porção do broto para a indução do enraizamento, os brotos foram inicialmente excisados em duas porções, formando um explante apical e outro basal. Em seguida, cada explante (apical e basal) teve sua base imersa rapidamente (10 segundos) em solução com 1000 mg.L⁻¹ de AIB, plantados em bandejas plásticas com substratos (Plantmax® ou vermiculita) e acondicionados em sala de crescimento com temperatura de 24 °C e fotoperíodo de 16h de luz, por duas semanas. A cada 2

dias, as câmaras eram abertas e recebiam pulverização de água destilada para manter a umidade. Em seguida, as bandejas foram removidas para a casa de vegetação da Embrapa Acre.

Após 30 dias de cultura, as plantas foram removidas das bandejas e avaliadas quanto ao percentual de enraizamento, percentual de sobrevivência, número de raízes, comprimento da raiz principal, crescimento relativo do caule e número de folhas. Os experimentos foram organizados em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 2 (concentrações de fitorregulador x tipos de substratos) e em esquema fatorial 2 x 2 (tipo de explante x tipo de substrato), com quatro repetições, sendo cada repetição com dez brotos.

Os resultados obtidos com o percentual de enraizamento e de sobrevivência foram transformados para arco seno $(x/100)^{0,5}$. As médias foram submetidas à análise de variância (ANOVA), com a separação de médias pelo teste de Scott-Knott com $p < 0,05$ (SOKAL; ROHLF, 1995), utilizando-se o programa computacional SISVAR (FERREIRA, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O enraizamento *ex vitro* de *T. grandis* ocorreu em todos os tratamentos avaliados (Figura 1), tanto na presença quanto na ausência de AIB (Tabela 1), demonstrando elevados percentuais de enraizamento e ausência de formação de calo na base dos explantes. Tais resultados obtidos podem estar relacionados com o elevado teor endógeno de auxinas das plantas jovens utilizadas como fonte de explante, conforme apresenta Hartmann *et al.* (1997), bem como com a capacidade intrínseca da espécie em desenvolver raízes. Resultados semelhantes também foram obtidos por Pedrotti; Voltolini (2001) com o enraizamento *ex vitro* de porta-enxerto de macieira.

Tabela 1. Enraizamento *ex vitro* de brotos de *Tectona grandis* L. sob efeito de ácido indolbutírico (AIB) em diferentes substratos. CR = Concentrações de AIB (mg.L^{-1}); VM = vermiculita; PM = Plantmax®.

Table 1. *Ex vitro* rooting of *Tectona grandis* L. under effect of indol butiric acid IBA in different substrates. CR = Concentrations of IBA (mg.L^{-1}); VM = vermiculite; PM = Plantmax®.

CR	Percentual de enraizamento		Número de raízes adventícias		Comprimento da raiz principal (cm)	
	VM	PM	VM	PM	VM	PM
0	85 b	95 a	1,6 b	1,1 b	3,0 b	1,7 c
100	90 b	100 a	2,1 a	2,3 a	3,0 b	3,0 b
1000	100 a	100 a	2,5 a	2,4 a	2,9 b	4,0 a
2000	100 a	100 a	2,4 a	3,1 a	3,0 b	4,1 a
4000	100 a	100 a	2,3 a	2,1 a	2,8 b	2,1 c
Média	95	99	2,1	2,1	2,9	2,9
CV%	5,5		25,1		24,1	

Letras minúsculas diferentes comparadas na vertical indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Scott-Knott (ao nível de 5% de significância).

Os menores percentuais de enraizamento (85 e 90%) foram observados nos tratamentos em ausência de AIB e na presença de 100 mg.L^{-1} de AIB, ambos em vermiculita. As propriedades físico-químicas dos substratos avaliados são diferentes, envolvendo diferenças no potencial hídrico e mobilidade de íons, e diferenças na penetração da luminosidade, fatores que podem ter resultado em diferentes respostas rizogênicas. Em estudos de enraizamento *ex vitro* realizados por Khosh-khui; Sink (1982), em estacas de roseira, por Wang (1981), em pereira, e por Zanol (1996), em macieira, demonstraram que ocorre aumento na indução de formação de raízes em condições de ausência de luminosidade na base das microestacas.

Os maiores valores do número de raízes adventícias foram verificados na presença de AIB em ambos os substratos (vermiculita e Plantmax®), independentemente da concentração. O aumento das concentrações de AIB não influenciou na formação do número de primórdios radiculares. Com o uso do substrato tipo vermiculita não existiram diferenças entre as concentrações no comprimento da raiz principal. Os maiores comprimentos da raiz principal foram observados com o uso de 1000 e 2000 mg.L^{-1} de AIB. O uso de 4000 mg.L^{-1} de AIB com o substrato Plantmax® parece inibir o comprimento das raízes adventícias.

As condições experimentais com o uso de substrato do tipo vermiculita, no que diz respeito às propriedades físicas e químicas de dinâmica de sais minerais e de água nas bandejas plásticas, podem ter determinado o padrão de divisão celular e do crescimento das raízes independentemente da concentração de AIB aplicada. Resultados semelhantes foram observados no enraizamento *ex vitro* de porta-enxerto de macieira, em que, em concentrações de 0 a 1500 mg.L⁻¹ de AIB, os comprimentos das raízes foram iguais estatisticamente (PEDROTTI; VOLTOLINI, 2001).

As plantas enraizadas *ex vitro* apresentaram percentual de sobrevivência máximo (100%) em todos os tratamentos utilizados (Tabela 2), após 30 dias de cultivo.

Tabela 2. Aclimatização de brotos de *Tectona grandis* L. sob efeito de ácido indolbutírico (AIB) em diferentes substratos (vermiculita e Plantmax®). CR = Concentrações de AIB (mg.L⁻¹); VM = vermiculita; PM = Plantmax®.

Table 2. Acclimatization of shoots from *Tectona grandis* L. under effect of indol butiric acid (IBA) in different substrates (vermiculite and Plantmax®). CR = Concentrations of IBA (mg.L⁻¹); VM = vermiculite; PM = Plantmax®.

CR	Percentual de sobrevivência		Crescimento relativo do caule (cm)		Número de folhas	
	VM	PM	VM	PM	VM	PM
0	100 a	100 a	0,4 b	0,3 b	8,4 b	8,3 b
100	100 a	100 a	1,2 a	1,1 a	9,3 a	9,1 a
1000	100 a	100 a	1,8 a	1,4 a	9,4 a	9,2 a
2000	100 a	100 a	1,1 a	1,2 a	9,2 a	9,2 a
4000	100 a	100 a	1,1 a	1,3 a	9,3 a	9,4 a
Média	100	100	1,1	1,0	9,1	9,0
CV%	5,5		26,7		11,3	

Letras minúsculas diferentes comparadas na vertical indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Scott-Knott (ao nível de 5% de significância).

O crescimento relativo do caule e do número de folhas (parte aérea) apresentou os maiores valores com o uso de AIB, independentemente da concentração e do tipo de substrato. O aumento das concentrações de AIB não influenciou no desenvolvimento da parte aérea. Resultados contrários foram obtidos por Augusto *et al.* (2006), no enraizamento *ex vitro* de amoreira-preta (*Rubus* sp.), em que imersão em solução com e sem AIB (1 mM) apresentaram os mesmos valores para a altura da parte aérea.

A imersão da base dos brotos regenerados de *T. grandis* em soluções contendo AIB promoveram a formação do maior número de raízes adventícias, do maior crescimento relativo do caule e do maior número de folhas, evidenciando o papel fundamental do maior desenvolvimento do sistema radicular no crescimento da parte aérea de uma plântula, em termos proporcionais. Segundo Peres; Kerbauy (2000), o equilíbrio no desenvolvimento de raízes e caule é vantajoso para a sobrevivência geral da planta, pois ambos os órgãos têm funções complementares.

O enraizamento *ex vitro* das diferentes porções de brotos de *T. grandis* ocorreu em todos os tratamentos avaliados (Figura 1), não apresentando diferenças entre as porções do explante utilizado (apical e basal) e entre os substratos (Tabela 3). Nos explantes (brotos) da porção basal, o crescimento da parte aérea (caule) ocorreu pelo desenvolvimento de uma gema axilar (novo broto), a qual estabeleceu dominância apical. Nos explantes (brotos) da porção apical, o crescimento ocorreu pela dominância apical do ápice mantido do broto micropropagado.

As porções apicais tendem a possuir os melhores resultados de enraizamento, pois, além de serem os principais centros de síntese de auxina, também possuem tecidos mais jovens e, portanto, mais responsivos em processos morfogênicos (SCHERWINSKI-PEREIRA; FORTES, 2001).

O número de raízes adventícias regeneradas apresentou diferenças entre a porção apical e basal com o uso do substrato tipo vermiculita (Tabela 3), sendo que o maior número ocorreu nos explantes de origem apical. O uso de explantes apicais deve ter diferenciado o maior número de raízes, devido tanto à juvenildade dos tecidos mais próximos da região meristemática apical quanto à maior concentração de auxina endógena dessa porção. Com o uso do substrato tipo Plantmax® não existiram diferenças no número de raízes com relação à origem apical ou basal do explante.

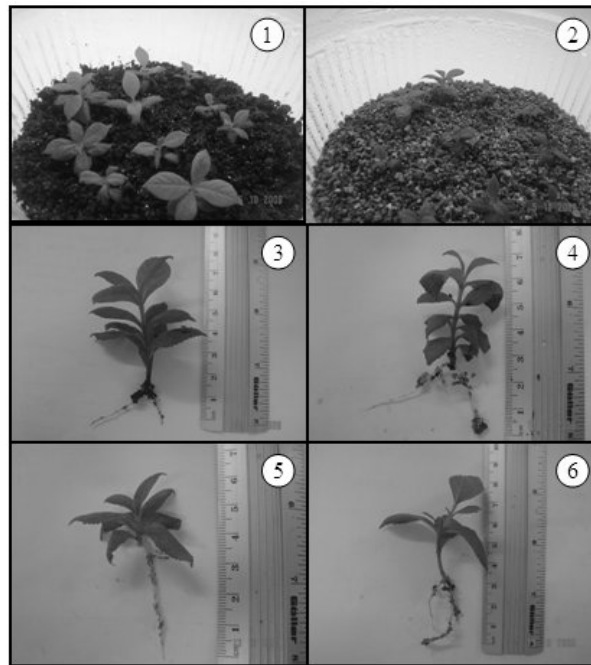


Figura 1. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização de plantas de teca (*Tectona grandis* L.). 1–2. Brotos micropropagados em substrato Plantmax® e vermiculita. 3. Broto enraizado *ex vitro* em substrato tipo Plantmax®. 4. Broto enraizado *ex vitro* em substrato tipo vermiculita. 5. Porção apical do broto enraizada. 6. Porção basal do broto enraizada com broto dominante (seta).

Figure 1. *Ex vitro* rooting and acclimatization of plants of teak (*Tectona grandis* L.). 1–2. Micropropagated shoots in Plantmax® and vermiculite. 3. *Ex vitro* rooted shoot in substrate Plantmax®. 4. *Ex vitro* rooted shoot in vermiculite substrate type. 5. Apical shoot rooted. 6. Basal portion of shoot rooted with dominant bud (arrow).

Tabela 3. Enraizamento *ex vitro* de diferentes porções de brotos de *Tectona grandis* L. sob efeito de ácido indolbutírico (AIB) em diferentes substratos (vermiculita e Plantmax®). VM = vermiculita; PM = Plantmax®.

Table 3. *Ex vitro* rooting from different portions of shoots from *Tectona grandis* L. under effect of indolbutiric acid (IBA) in different substrates (vermiculite and Plantmax®). VM = vermiculite; PM = Plantmax®.

Porção	Percentual de enraizamento		Número de raízes adventícias		Comprimento da raiz principal (cm)		Crescimento relativo do caule (cm)	
	VM	PM	VM	PM	VM	PM	VM	PM
Apical	100 a	100 a	2,4 a	2,3 ab	3,1 a	3,9 a	1,7 a	1,3 ab
Basal	100 a	100 a	1,7 b	1,8 ab	3,5 a	3,0 a	0,9 b	1,0 b
Média	100	100	2,0	2,0	3,3	3,4	1,3	1,1
CV%	0		16,9		14,1		25,5	

Letras minúsculas diferentes comparadas na vertical indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de SNK (ao nível de 5% de significância).

De acordo com Scherwinski-Pereira; Fortes (2004), um dos fatores mais importantes no enraizamento *ex vitro* é o tipo de substrato, pois devem apresentar boa retenção de água e ar. Portanto, neste experimento, os tipos de substrato (vermiculita e Plantmax®), por apresentarem composições e características diferentes, promoveram respostas fisiológicas distintas nos explantes.

O comprimento da raiz principal não demonstrou diferenças estatisticamente significativas (Tabela 3) entre a porção apical e basal, em ambos os tipos de substratos. Resultados diferentes com relação à porção do explante foram observados por Scherwinski-Pereira; Fortes (2004), sendo as raízes

formadas a partir de estacas apicais com maior comprimento do que as raízes das estacas de origem mediana e basal.

O crescimento relativo do caule apresentou diferenças entre a porção apical e basal com o uso do substrato tipo vermiculita (Tabela 2), com o maior crescimento ocorrendo nos explantes de origem apical.

A ocorrência de enraizamento *ex vitro* em porções apicais e basais de brotos micropropagados de *T. grandis* e o crescimento da parte aérea, sem mortalidade das plântulas, indicam que as taxas de multiplicação podem ser duplicadas com essa referida metodologia, representando um ganho real para os produtores de mudas em viveiros.

CONCLUSÕES

- O enraizamento *ex vitro* de brotações micropropagadas a partir de plantas jovens de *Tectona grandis* L. em substratos tipo vermiculita e Plantmax® são viáveis.
- Os melhores resultados para o enraizamento *ex vitro* nesse estudo são aqueles com o uso de 2000 e 4000 mg.L⁻¹ de AIB como solução para a imersão rápida da base dos brotos, em substrato tipo Plantmax®.
- A aclimatização das plântulas em substrato vermiculita e Plantmax® ocorre com máxima sobrevivência.
- O seccionamento dos brotos micropropagados em porção apical e basal para o enraizamento *ex vitro* duplicam a taxa de multiplicação dessa espécie.

REFERÊNCIAS

AKRAM, M.; AFTAB, F. High frequency multiple shoot formation from nodal explants of teak (*Tectona grandis* L.) induced by thidiazuron. **Propag Ornament Plant**, 8: 72-75, 2008.

_____. An efficient method for clonal propagation and *in vitro* establishment of softwood shoots from epicormic buds of teak (*Tectona grandis* L.). **For. Stud. China**, 11 (2): 105-110, 2009.

ÁLVAREZ, R.; NISSE, S. J.; SUTTER, E. R. Relationship between indole-3acetic acid levels in apple (*Malus pumila* Mill.) rootstocks cultured *in vitro* and adventitious root formation in presence of indole-3-butyric acid. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 89, p. 439-443, 1989.

AUGUSTO, C. S. S.; BIASI, L. A.; TELLES, C. A. Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de amoreira-preta cv. Brazos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 28 (3): 473-476, 2006.

DE KLERK, G. J.; BRUGGE, J. T.; MARINOVA, S. Effectiveness of indoleacetic acid, indolebutyric acid and naphthalenacetic acid during adventitious root formation *in vitro* in *Malus* 'Jork 9'. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 49, p. 39-44, 1997.

DÍAZ-PÉREZ, J. C.; SUTTER, E. G.; SHACKEL, K. A. Acclimatization and subsequent gas-exchange, water relations, survival and growth of microcultured apple plantlets after transplanting them in soil. **Physiologia Plantarum**, 95 (2): 225-232, 1995.

FERMINO JR., P. C. P.; NAGAO, E. O.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Estabelecimento, germinação e multiplicação *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.) a partir de genótipos da Amazônia Sul-Occidental. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, 37(84): 427-435, 2009.

FERREIRA, D. F. **Programa Sisvar.exe: sistema de análise de variância**. Versão 3.04.2003.

FERRI, V. C.; CENTELLAS, A. Q.; HELBIG, V. E.; FORTES, G. R. L. Uso de ágar, amido e ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de macieira MM 111. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 561-565, 1998.

FIGUEIREDO, E. O.; OLIVEIRA, L. C.; BARBOSA, L. K. F. **Teca (*Tectona grandis* L.F.): principais perguntas do futuro empreendedor florestal**. Rio Branco: Embrapa Acre, p. 10-19, 2005.

- GUPTA, P. K.; NADGIR, A. L.; MASCARENHAS, A. F.; JAGANNATHAN, V. Tissue culture of forest trees: clonal multiplication of *Tectona grandis* L. (teak) by tissue culture. **Plant Sci Lett**, 17: 259-268, 1980.
- GYVES, E. M.; JUWARTINA IDA ROYANI, J. I.; RUGINI, E. Efficient method of micropropagation and in vitro rooting of teak (*Tectona grandis* L.) focusing on large-scale industrial plantations. **Ann. For. Sci.**, 64: 73-78, 2007.
- HARBAGE, J. F.; STIMART, D. P. Effect of pH and 1-indol-3 butyric acid (IBA) on rooting of apple microcuttings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 121, n. 6, p. 1049-1053, 1996.
- HARTMANN, H. T. **Plant propagation: principles and practices**. 6 ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770 p.
- HEDEGART, T. The teak improvement centre: ten years after initiation. **Vanasarn**, 32: 342-356, 1974.
- KHATRI, J. H.; KUKDIA, M. U.; SINGH, R. R. Micropropagation of teak (*Tectona grandis* L.). **Indian Journal of Forestry**, 24: 368-371, 2001.
- KHOSH-KHUI, M.; SINK, K. C. Rooting-enhancement of *Rosa hybrida* for tissue culture propagation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, n. 17, p. 371-376, 1982.
- LOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, v. 30, p. 421-427, 1981.
- MCCLELLAND, M. T.; SMITH, M. A. L.; CAROTHERS, Z. B. The effects of *in vitro* and *ex vitro* root initiation on subsequent microcutting root quality in three woody plants. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 23, p. 115-123, 1990.
- MONTEUUIS, O.; MAITRE, H. F. Advances in teak cloning: new developments in teak cloning lead to better plantation stock. **ITTO Tropical Forest Update**, 17(3): 13-15, 2007.
- PEDROTTI, E. L.; VOLTOLINI, J. A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira M9. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 23 (2): 234-239, 2001.
- POSPISILOVÁ, J.; TICHÁ, I.; KADLECEK, P.; HASEL, D.; PLZAKOVÁ, S. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. **Biologia Plantarum**, 42 (4): 481-497, 1999.
- SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; FORTES, G. R. L. Multiplicação e aclimatização da macieira influenciada pelo tipo de explante e pelo tempo de permanência em meio de enraizamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 417-420, 2001.
- SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; FORTES, G. R. L. Produção de mudas pré-básicas de batatas por estaquia a partir de plantas micropropagadas. **Horticultura Brasileira**, 22 (2): 186-192, 2004.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry**. São Francisco: Freeman and Company, 1995. 776 p.
- SUTTER, E. Stomatal and cuticular water loss from apple, cherry and sweetgum plants after removal from *in vitro* culture. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Washington, v. 113, n. 2, p. 234-238, 1988.
- TIWARI, S. K.; TIWARI, K. P.; SIRIL, E. A. An improved micropropagation protocol for teak. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, 71: 1-6, 2002.
- TSUKAMOTO FILHO, A. A.; LOPES DA SILVA, M.; COUTO, L.; MÜLLER, M. D. Análise econômica de um plantio de teca submetido a desbastes. **Revista Árvore**, 27 (4): 487-494, 2003.
- VANTELGEN, H. J.; VANMIL, A.; KUNNEMAN, B. Effect of propagation and rooting condition on acclimatization of micropropagated plants. **Acta Botanica Neerlandica**, Amsterdam, v. 41, n. 4, p. 453-459, 1992.

WANG, Q. Factors affecting rooting of microcuttings of the pear rootstock BP10030. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 45, p. 209-213, 1991.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Enraizamento “ex vitro” de gemas de *Eucalyptus* spp. multiplicadas e alongadas “in vitro”. **Scientia Forestalis**, 51: 29-36, 1997.

YASODHA R.; SUMATHI, R.; GURUMURTHI, K. Micropropagation for quality production in plantation forestry. **Indian Journal of Biotechnology**. 2004.

_____. Improved micropropagation methods for teak. **Journal of Tropical Forestry Science**, 17: 63-75, 2005.

ZANOL, G. C. **Enraizamento *in vitro* do porta-enxerto MARUBAKAIDO (*Malus prunifolia*) influenciado pela exposição de períodos de escuro, concentrações de ácido indolbutírico e floroglucinol**. 1996. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 1996.