

GERMINAÇÃO *IN VITRO* E *EX VITRO* DE EMBRIÕES/SEMENTES DE *Tabebuia serratifolia* (VAHL) NICH

Marcela Carlota Nery¹, Maria Laene Moreira de Carvalho², Luciana Magda de Oliveira³,
Fernanda Carlota Nery⁴, Débora Gabriela Silva⁵

(recebido: 7 de maio de 2007; aceito: 28 de novembro de 2007)

RESUMO: Estudar a germinação de sementes permite conhecer o comportamento das sementes ao longo do seu desenvolvimento e entender seu mecanismo de conservação. Com o intuito de avaliar a germinação das sementes de ipê-amarelo coletadas em diferentes estádios de desenvolvimento, 10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 dias após a antese, foram testados os meios de cultura *in vitro*, MS e WPM, e métodos de desinfestação das sementes na germinação *ex vitro*. Sementes de ipê-amarelo desinfestadas com carbendazim (2% por 2 minutos), hipoclorito de sódio (2% do cloro ativo por 3 minutos) e sementes não desinfestadas, foram submetidas ao teste de germinação sobre areia a 30 °C, sob luz branca constante. No cultivo *in vitro* as sementes adquiriram capacidade germinativa aos 39 dias após a antese e germinação superior aos 53 dias após a antese, independente do meio de cultura. Na germinação *ex vitro*, as sementes desinfestadas com carbendazim e não desinfestadas apresentaram germinação superior, o uso hipoclorito de sódio causou efeito fitotóxico às sementes.

Palavras-chave: Ipê-amarelo, meios de cultura, desenvolvimento.

GERMINATION *IN VITRO* AND *EX VITRO* OF EMBRYOS/SEEDS OF *Tabebuia serratifolia* (VAHL) NICH

ABSTRACT: The knowledge of germination of seeds allows understanding the behavior of seeds during development and the conservation mechanism. For evaluating the germination of the seeds of ipê amarelo collected during seven development stages, 10, 18, 25, 32, 39, 47 and 53 days after the anthesis, the medium of culture *in vitro* were tested, MS and WPM, and methods of disinfections of the seeds in the germination *ex vitro*. Seeds of yellow ipê disinfections with carbendazim (2% for 2 minutes), sodium hypochlorite (2% of the active chlorine for 3 minutes) and seeds without surface sterilisation, were submitted to the germination test on sand to 30 °C, under constant white light. In the cultivation *in vitro*, seeds acquired germinative capacity 39 days after the anthesis and superior germination 53 days after the anthesis, independent of the medium of culture. In the germination *ex vitro*, the seeds disinfections with carbendazim and without surface sterilization presented superior germination, the use of sodium hypochlorite caused fitotoxin effect to the seeds.

Key words: Yellow ipê, medium of culture, development.

1 INTRODUÇÃO

A espécie *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson Gomes ex DC., conhecida popularmente como ipê-amarelo, é uma espécie arbórea pertencente à família *Bignoniaceae* (LORENZI, 1992), normalmente utilizada na arborização urbana, além de ser indicada em trabalhos de restauração de áreas degradadas e para fins medicinais (LORENZI, 1992).

A propagação do ipê-amarelo é realizada principalmente por meio de sementes que, apesar de produzidas em grande quantidade, apresentam problemas de germinação e conservação, podendo haver incrementos na germinação, seguidos de decréscimos e acréscimos ao longo do desenvolvimento e armazenamento, acarretando perdas na formação de mudas em viveiros florestais (GEMAQUE, 1999; OLIVEIRA, 2004).

¹MSc. Agronomia/Fitotecnia, Doutoranda no Departamento de Agricultura/DAG da Universidade Federal de Lavras/UFLA, Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – nery.marcela@gmail.com

²Professora do Departamento de Agricultura/DAG da Universidade Federal de Lavras/UFLA – Setor de Sementes – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – mlaenemc@ufla.br

³Dra. Agronomia/Fitotecnia, Bolsista PRODOC/ CAPES – Departamento de Agricultura/DAG da Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – lu.magda@ig.com.br

⁴MSc. Agronomia/Fisiologia Vegetal, Doutoranda no Departamento de Biologia/DBI da Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – fernandacarlot@yahoo.com.br

⁵Graduanda em Agronomia, Bolsista PIBIC/CNPq – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – gabisilva_mail@yahoo.com.br

Na literatura são escassos os estudos envolvendo o processo de desenvolvimento e maturação das sementes do gênero *Tabebuia*, que possam elucidar aspectos relacionados à germinação e à conservação dessas sementes. No estudo do desenvolvimento de sementes tem-se empregado a tecnologia *in vitro*, por sua possibilidade de multiplicação em qualquer época do ano e por utilizar materiais genéticos que normalmente têm o inconveniente de perder sua capacidade regenerativa, que dificulta a propagação vegetativa para a obtenção de descendência garantida (BAJAJ et al., 1998).

A cultura de tecidos ou micropropagação é uma ciência que detém as técnicas por meio das quais pequenos fragmentos de tecido vegetal vivo, designados explantes, ou embriões de sementes, são cultivados em meio nutritivo sob condições assépticas (REZENDE, 2005).

Por consistirem parte essencial da cultura de tecidos, os meios de cultura têm evoluído juntamente com a própria ciência da biotecnologia. Os meios nutritivos utilizados para a cultura de células, tecidos e órgãos de plantas fornecem as substâncias essenciais para o crescimento e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (CALDAS et al., 1998). Devem suprir tecidos e órgãos cultivados *in vitro* com macro e micronutrientes, uma fonte de carboidrato, normalmente a sacarose, e outras substâncias como vitaminas, aminoácidos, agente geleificante e reguladores de crescimento (PASQUAL et al., 1998).

Diversas formulações de meio têm sido empregadas na cultura *in vitro*, as quais diferem entre si basicamente em relação à concentração dos sais. Para espécies lenhosas, o meio MS, não tem se mostrado satisfatório em alguns casos, tendo-se observado que composições mais diluídas em macronutrientes tiveram melhor desempenho. Formulações especialmente desenvolvidas para espécies lenhosas, como o meio WPM (do inglês *wood plant medium*) (LLOYD & MCCOWN, 1980), têm sido descritas e utilizadas frequentemente como alternativa ao meio MS, por apresentarem 25% das concentrações de íons nitrato e amônia do meio MS, além de mais potássio e um alto nível de íons sulfato (MELO et al., 1999; PASQUAL, 2001).

A micropropagação de espécies lenhosas requer estudos mais específicos e desenvolvimento de metodologias que atendam às exigências dos explantes (COELHO, 1999; DECCETI, 2000; PEREIRA, 2004).

Já na germinação *ex vitro* de sementes do gênero *Tabebuia* um dos problemas é a presença de microrganismos que, muitas vezes, só se manifestam

quando as sementes são colocadas para germinar (BERJAK, 1995).

Segundo Ferreira (1989), um dos problemas mais sérios nos estudos de germinação é a grande contaminação fúngica das sementes, principalmente em testes realizados em incubadoras ou germinadores, que dão condições ideais para o desenvolvimento e a disseminação de alguns dos fungos, causando apodrecimento das sementes e dificultando o diagnóstico correto da qualidade fisiológica do lote. Tal fato demonstra a necessidade de utilização de produtos que visam a eliminação destes patógenos. A recomendação destes no tratamento de sementes de espécies florestais deve considerar a população fúngica associada e o respectivo método de aplicação.

Para *Tabebuia roseo-alba*, Degan et al. (1997) constataram que praticamente 80% das sementes estavam contaminadas por fungos do gênero *Fusarium*, considerado um possível patógeno destas sementes por causar danos tanto nas sementes em germinação como em plântulas. Ferreira (1989) salienta que, em um teste de germinação as contaminações externas do tegumento podem ser eliminadas ou diminuídas significativamente, caso as sementes de um lote sejam submetidas à desinfestação superficial com fungicidas. Segundo o autor, para o tratamento de sementes de espécies florestais nativas do Brasil, tem sido recomendado o uso de hipoclorito de sódio (2% a 3%, de 1 a 3 minutos), Thiram, Captan e Benomyl (1-3 minutos). Sales & Castro (1994) constataram que o tratamento das sementes de *Tabebuia serratifolia* e babartimão com fungicidas Benomyl, Captan, Thiram, Iprodione e hipoclorito de sódio foi eficiente em reduzir o nível de ocorrência de fungos na realização do teste de germinação. Oliveira (2004) não observou diferenças significativas entre os tratamentos de desinfestação hipoclorito de sódio (2% por 3 minutos) e Benomyl (2% por 2 minutos) para sementes de *Tabebuia serratifolia* e *Tabebuia impetiginosa*.

Nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) como recomendação geral é indicada a assepsia superficial com hipoclorito de sódio (NaOCl), na concentração de 1%, por três minutos. Já a ISTA (1976) recomenda esse tratamento por 10 minutos, na mesma concentração para todas as sementes que precisam ser desinfestadas.

Objetivou-se com esse trabalho avaliar o comportamento das sementes de *Tabebuia serratifolia* *in vitro* e *ex vitro*, coletadas em diferentes estádios do desenvolvimento, e determinar o melhor meio de cultura para germinação *in vitro*, bem como o método mais adequado de desinfestação para germinação *ex vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes e Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais, do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

As sementes foram obtidas de uma população de 64 árvores matrizes localizadas nas proximidades do *campus* da UFLA, MG, situado em Lavras, MG, com altitude, segundo Brasil (1992), de 919 metros, latitude de 21°14'S e longitude de 45°00'W GRW e coletadas em estádios diferentes de desenvolvimento, distinguidas com base no número de dias após a antese (DAA) aos 10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 dias, nos meses de agosto a outubro de 2004.

No cultivo *in vitro* os embriões dos diferentes estádios de desenvolvimento foram desinfestados com álcool 70% durante 1 minuto e, posteriormente, com hipoclorito de sódio 2% de cloro ativo por 2 minutos. Em seguida, foram realizadas três lavagens em água destilada e autoclavada. Os embriões foram imersos em uma solução de hipoclorito de sódio 2% por 2 minutos em câmara de fluxo laminar (SOARES, 2005). A tríplice lavagem em água estéril foi repetida, e antes de serem inoculados, os embriões foram banhados em uma solução de fungicida sistêmico Carbendazim 2%, durante 2 minutos.

Os embriões isolados foram mantidos em meio de cultura *in vitro*, MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), com adição de 2% de GA₃ (ácido giberélico), carvão ativado e PVP (polivinilpirrolidona) e em meio WPM (LLOYD & MCCOWN, 1980), com 3% de sacarose e 0,6% de ágar. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem.

Após a inoculação, os frascos com os embriões foram mantidos em sala de crescimento sob temperatura de 27 ± 2° C e intensidade luminosa de 13 μ mol.s⁻¹.m⁻². Foram realizadas avaliações diárias, sendo avaliada a porcentagem de plântulas normais e anormais em cada tratamento. Foram utilizadas 20 repetições de três sementes para cada estádio de desenvolvimento.

As avaliações foram efetuadas computando-se enlagação da radícula, primeira contagem da germinação de embriões aos 14 dias após inoculação e plântulas normais aos 28 dias, além de índice de velocidade de germinação de embriões (MAGUIRE, 1962).

A desinfestação das embriões/sementes dos diferentes estádios de desenvolvimento antes do teste de germinação *ex vitro* foram realizadas com hipoclorito de sódio – 2% de cloro ativo por 3 minutos, desinfestação com fungicida sistêmico (Carbendazim) – 2% por 2 minutos e testemunha constituída de sementes imersas em água por 2 minutos. O teste foi realizado com quatro repetições

de 50 sementes, em substrato areia, a 30°C, sob luz constante (OLIVEIRA, 2004), sendo efetuada a porcentagem de plântulas normais aos 28 dias após a sementeira.

Os ensaios foram conduzidos seguindo o delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram previamente submetidos aos testes de normalidade dos resíduos e homocedasticidade das variâncias. Os dados de germinação foram transformados em $\arcsen \sqrt{(x/100)}$ e submetidos à análise estatística PROC GLM do software estatístico SAS® (SAS INSTITUTE, 1990). As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e os dados referentes às contagens foram avaliados pela análise de regressão polinomial.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estabelecimento *in vitro* de embriões de *Tabebuia serratifolia* ao longo do desenvolvimento, não foram observadas diferenças significativas entre os meios de cultura MS e WPM para todos os estádios e parâmetros avaliados (Tabela 1). Contudo, Soares (2005) observou para *Hancornia speciosa* maior porcentagem de germinação *in vitro* com a utilização dos meios de cultura WPM e MS/2.

A eficiência dos meios de cultura em proporcionar maior taxa de multiplicação de embriões varia conforme a espécie. Em trabalhos com *Ilex paraguariensis*, o meio de cultivo WPM propiciou melhores resultados de multiplicação quando comparado ao meio MS (ZANIOLO & ZANETTE, 2002). Para *Uncaria guianensis*, o melhor meio para indução de brotações múltiplas foi o MS; já para *Uncaria tomentosa*, o melhor foi WPM, suplementado com 1,0 mg L⁻¹ de BAP (PEREIRA, 2004). Na comparação entre diferentes diluições do meio MS com o meio WPM acrescidos de diferentes reguladores de crescimento, Raghava Swamy et al. (1992) observaram que a composição e a concentração dos nutrientes no meio de cultura influenciaram no requerimento de diferentes concentrações de reguladores de crescimento para as mesmas espécies.

Incrementos na germinação dos embriões de *Tabebuia serratifolia* foram verificados inicialmente aos 10 DAA, sendo os valores máximos de protrusão radicular, plântulas normais (primeira contagem) e germinabilidade de embriões observados aos 39 DAA, ajustando-se ao modelo cúbico. A maior velocidade de germinação ocorre em embriões com 25 DAA, ajustando-se ao modelo cúbico para o meio de cultura MS e ao modelo quadrático para o meio WPM (Figuras 1, 2, 3, 4 e 5). Após atingirem valores máximos, foram observados decréscimos, tanto para protrusão radicular, como para plântulas normais (primeira contagem), germinabilidade dos embriões e índice de velocidade de germinação.

Tabela 1 – Médias dos resultados (%) de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), alongamento da radícula (E) e índice de velocidade de germinação (IVG) no cultivo *in vitro* de embriões de *Tabebuia serratifolia*, nos diferentes estádios de desenvolvimento (DAA).

Table 1 – Results (%) of first counting of the germination (PC), germination test (TG), root elongation of embryos (E) and index of germination speed (IVG) in the cultivation *in vitro* of *Tabebuia serratifolia* embryos, during development stages (DAA).

DAA	Meios	Testes			
		PC	TG	E	IVG
10	MS	3 a	3 a	10 a	0,05 a
	WPM	0 a	0 a	7 a	0,01 a
18	MS	12 a	12 a	14 a	0,03 a
	WPM	7 a	7 a	12 a	0,01 a
25	MS	53 a	53 a	57 a	0,82 a
	WPM	45 a	55 a	60 a	0,68 a
32	MS	85 a	85 a	90 a	0,56 a
	WPM	97 a	97 a	98 a	0,71 a
39	MS	88 a	100 a	100 a	0,63 a
	WPM	83 a	98 a	98 a	0,63 a
47	MS	82 a	82 a	88 a	0,50 a
	WPM	89 a	92 a	97 a	0,56 a
53	MS	65 a	80 a	87 a	0,53 a
	WPM	77 a	85 a	88 a	0,68 a

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

De maneira geral, pode-se observar que os embriões apresentam germinabilidade em estádios imaturos do desenvolvimento das sementes. Resultados semelhantes foram obtidos por Estanislau (2002) que observou, para sementes de *Coffea arabica*, que os embriões isolados mostraram capacidade germinativa antes das sementes.

Pela análise da germinação das sementes de *Tabebuia serratifolia ex vitro*, os dados referentes à germinação se ajustaram ao modelo quadrático (Figura 5). A germinação *ex vitro* das sementes de *Tabebuia serratifolia* iniciou a partir de 32 DAA, em todos parâmetros avaliados, sendo os valores máximos verificados para as sementes aos 53 DAA, coincidindo com a abertura dos frutos. Guimarães (2000) relata, para sementes de *Coffea arabica*, que a viabilidade e o vigor aumentam com o avanço da maturação das sementes, apresentando melhores resultados nos estádios mais avançados.

Pela análise de germinação *ex vitro* das sementes de *Tabebuia serratifolia*, as alterações na porcentagem de germinação das sementes não desinfestadas (testemunha) e desinfestadas com fungicida sistêmico

(Carbendazim) não foram significativas; já o tratamento com hipoclorito de sódio acarretou em redução na porcentagem de germinação (Figura 5). Vale salientar que, possivelmente, as variações na porcentagem de germinação decorrentes dos tratamentos de desinfestação não foram devido à presença de microrganismos nas sementes e, sim, devido ao efeito fitotóxico, visto que nos estádios iniciais do desenvolvimento, as sementes ainda não se encontram com suas estruturas externas formadas.

Para sementes de *Erechtites valerianaefolia* a utilização de hipoclorito de sódio como forma de assepsia reduz e retarda o processo de germinação, em consequência da fitotoxidez causada por este (ZAYAT & RANAL, 1997).

Quando se compara a germinação *in vitro* e *ex vitro*, a germinação *in vitro* propiciou maiores taxas de germinação em relação a germinação *ex vitro*, este mesmo fato foi observado para sementes de *Pterodon pubescens* (sucupira-branca), em que na germinação *ex vitro* foi de 55%, enquanto, *in vitro* de 95%, com o tegumento removido. (COELHO, 1999).

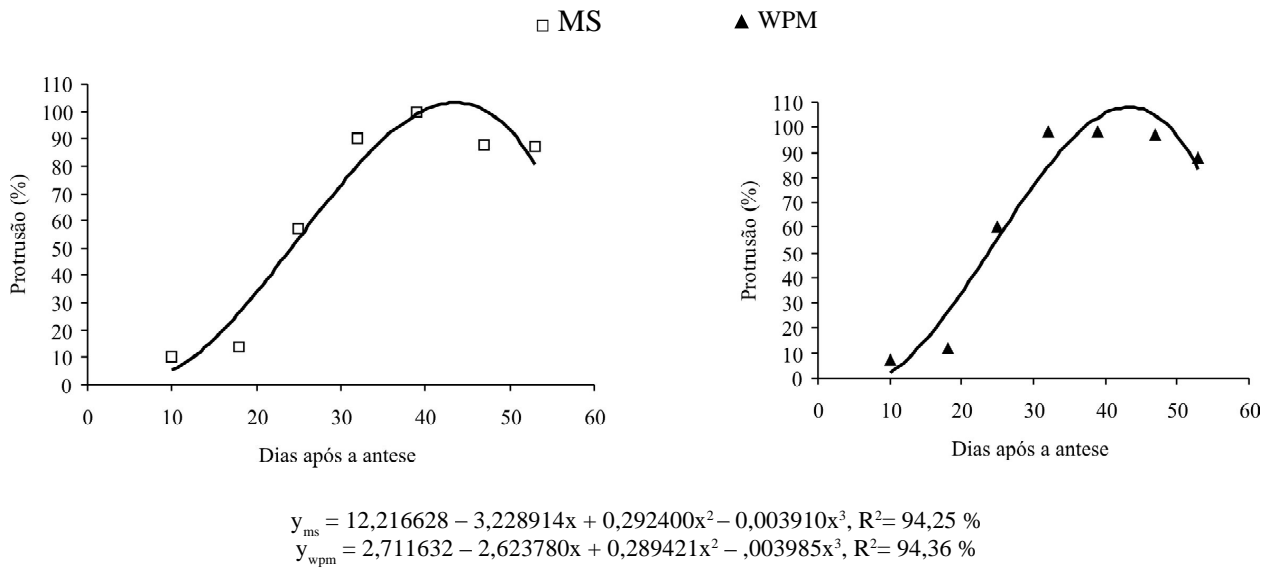


Figura 1 – Protrusão radicular em meio de cultura MS e WPM de embriões de *Tabebuia serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA).

Figure 1 – Root elongation of embryos in medium of culture MS and WPM of *Tabebuia serratifolia* embryos during the development, in function of the days after the anthesis (10, 18, 25, 32, 39, 47 and 53 DAA).

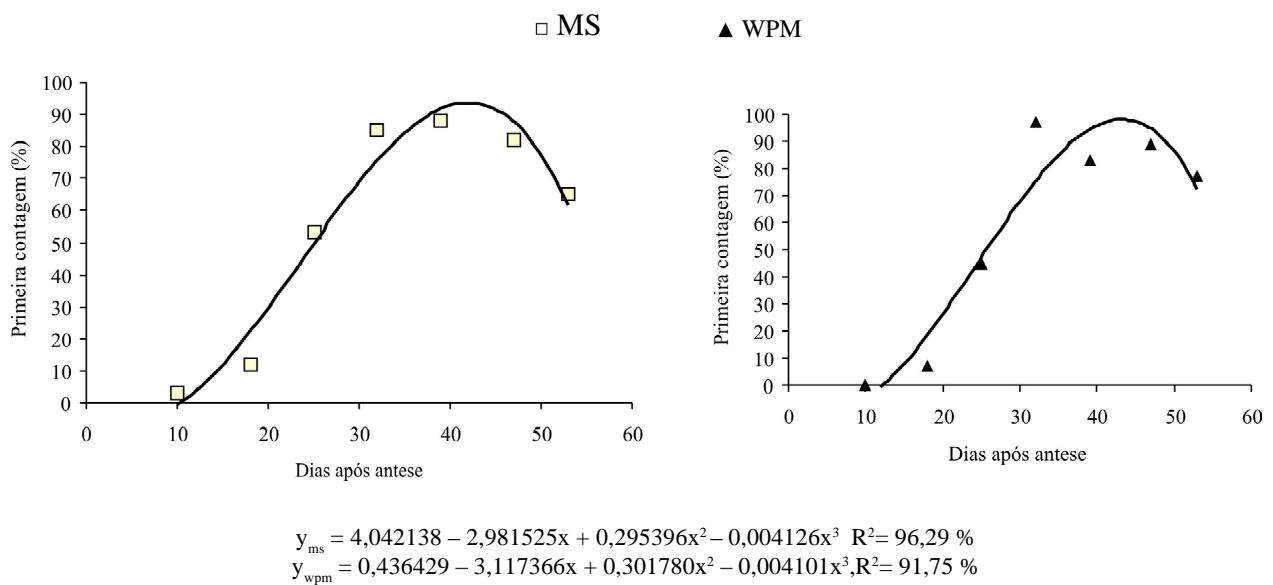


Figura 2 – Plântulas normais (primeira contagem) da germinação em meio de cultura MS e WPM de embriões de *Tabebuia serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA).

Figure 2 – Normal seedlings (first count) of the germination in medium of culture MS and WPM of *Tabebuia serratifolia* embryos during the development, in function of the days after the anthesis (10, 18, 25, 32, 39, 47 and 53 DAA).

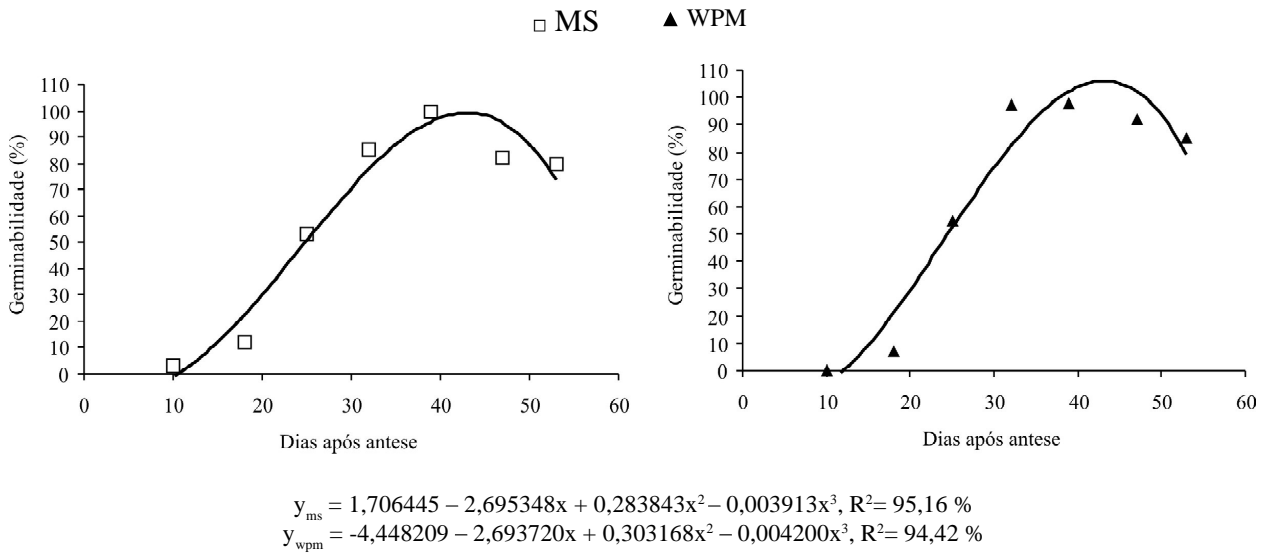


Figura 3 – Germinabilidade em meio de cultura MS e WPM de embriões de *Tabebuia serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA).

Figure 3 – Germination in medium of culture MS and WPM of *Tabebuia serratifolia* embryos during the development, in function of the days after the anthesis (10, 18, 25, 32, 39, 47 and 53 DAA).

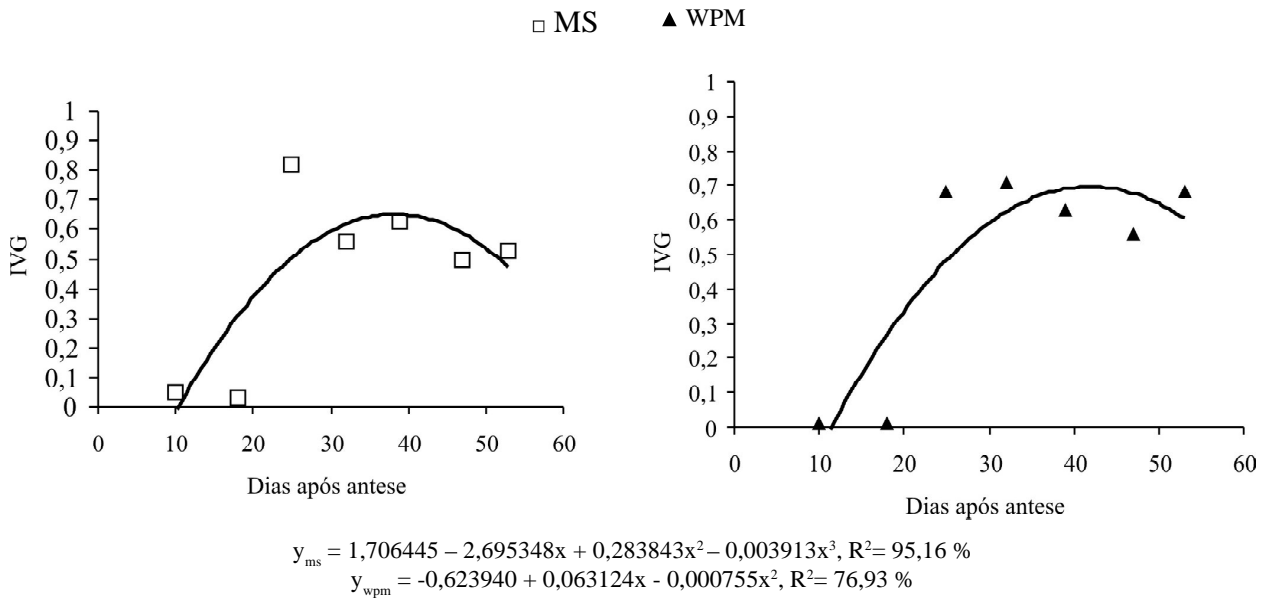
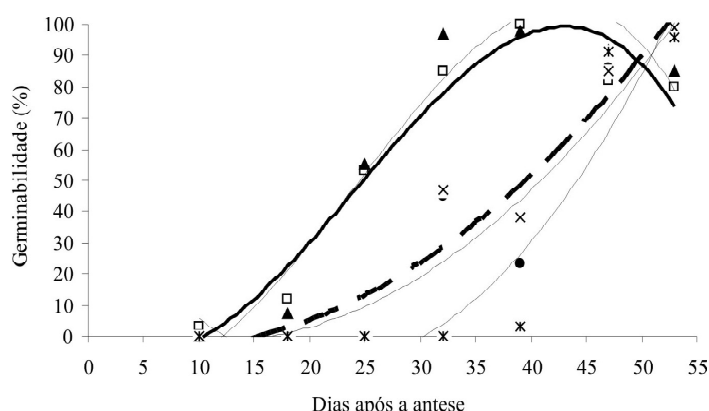


Figura 4 – Índice de velocidade de germinação em meio de cultura MS e WPM de embriões de *Tabebuia serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA).

Figure 4 – Index of germination speed in medium of culture MS and WPM of *Tabebuia serratifolia* embryos during the development, in function of the days after the anthesis (10, 18, 25, 32, 39, 47 and 53 DAA).



\square — $y_{ms} = 1,706445 - 2,695348x + 0,283843x^2 - 0,003913x^3$ $R^2 = 95,16 \%$
 \triangle --- $y_{wpm} = -4,448209 - 2,693720x + 0,303168x^2 - 0,004200x^3$ $R^2 = 94,42 \%$
 \bullet ...Testemunha $y = 6,896460 - 1,428066x + 0,060742x^2$ $R^2 = 88,97 \%$
 \times --- Fungicida $y = -2,060985 - 0,64867x + 0,049754x^2$ $R^2 = 93,17 \%$
 $*$ -.-. Hipoclorito de sódio $y = 49,935536 - 4,868520x + 0,113722x^2$ $R^2 = 88,05\%$

Figura 5 – Germinabilidade em meios de cultura MS e WPM e métodos de desinfestação de embriões/sementes de *Tabebuia serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA).

Figure 5 – Germination in MS and WPM and methods of disinfestations of *Tabebuia serratifolia* embryos/seeds during the development, in function of the days after the anthesis (10, 18, 25, 32, 39, 47 and 53 DAA).

4 CONCLUSÕES

Os embriões de *Tabebuia serratifolia* apresentam capacidade germinativa *in vitro* aos 39 dias após a antese, independente do meio de cultura, enquanto a máxima germinação *ex vitro* ocorreu aos 53 dias após a antese.

Para germinação *in vitro*, os meios de cultura MS e WPM proporcionaram o mesmo resultado de germinação.

O tratamento de desinfestação testemunha (sementes não desinfestadas) e Carbendazim são eficientes na promoção da germinação *ex vitro*.

O uso de hipoclorito de sódio afeta negativamente a germinação *ex vitro* de sementes de ipê-amarelo.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAJAJ, Y. P. S.; URMANOWA, M.; OLSZOWSKA, E. O. Biotechnology of the micropropagation of medicinal and aromatic plants. **Biotechnology in Agriculture and Forestry**, Berlin, v. 4, n. 1, p. 60-103, 1998.

BERJAK, P. The role of microorganisms in deterioration during storage of recalcitrant and intermediate seeds. In: OUDRAOGO, A. S.; POULSEN, K.; STUBSGAARD, F. **Intermediate/recalcitrant tropical forest tree seeds: proceedings of a working on improved methods for handling and storage of intermediate/**

recalcitrant tropical forest tree seeds. Rome: IPGRI; Denmark: DANIDA, 1995. p. 121-126.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Produção Vegetal. **Regras para análises de sementes: divisão de sementes e mudas**. Brasília, DF, 1992. 365 p.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998. v. 2, p. 679-736.

COELHO, M. C. F. **Germinação de sementes e propagação *in vitro* de sucupira branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.]**. 1999. 119 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

DECETI, S. F. C. **Propagação *in vitro* de *Annona glabra* L.** 2000. 101 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

DEGAN, P.; AGUIAR, I. B.; SADER, R.; PINTO, L. R. Composição química, sanidade, secagem e germinação de sementes de ipê-branco (*Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand. – Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 41-47, 1997.

- ESTANISLAU, W. T. **Modelo funcional de desenvolvimento de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2002. 125 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.
- FERREIRA, F. A. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais, 1989. 570 p.
- GEMAQUE, R. C. R. **Maturação, tolerância à dessecação e alterações na qualidade fisiológica em sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.) envelhecidas artificialmente**. 1999. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.
- GUIMARÃES, R. M. **Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2000. 180 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 4, n. 1, p. 51-177, 1976.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings of International Plant Propagators' Society**, Seattle, v. 30, p. 421-427, 1980.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 368 p.
- MAGUIRE, J. D. Seed of germination, aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.
- MELO, N. F. de; OKASAKI, W. Y.; LEITE, C. B.; FÁRI, M. Estabelecimento do cultivo *in vitro* da aceroleira (*Malpighia emarginata* DC.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 1, p. 102-107, jan./mar. 1999.
- MURASSHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Mar. 1962.
- OLIVEIRA, L. M. **Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl. Nich. e *T. impetiginosa* (Martius Ex A. P. De Candolle Standley) envelhecidas natural e artificialmente**. 2004. 160 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.
- PASQUAL, M. **Textos acadêmicos: meios de cultura**. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001. 127 p.
- PASQUAL, M.; RAMOS, J. D.; HOFFMAN, A.; CARVALHO, G. R. **Componentes e propriedades dos meios de cultura: meio de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1998. 127 p.
- PEREIRA, R. C. A. **Micropropagação, indução de calos, características anatômicas e monitoramento dos biomarcadores de *Uncaria tomentosa* Willdenow Ex Roemer & Schultes De e *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmelin (Unha de Gato)**. 2004. 186 p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.
- RAGHAVA SWAMY, B. V.; HIMABINDU, K.; LAKSHMI SITA, G. In vitro micropropagation of elite rosewood (*Dalbergia latifolia* Roxb.). **Plant Cell Reports**, New York, v. 11, p. 126-131, 1992.
- REZENDE, J. C. **Desenvolvimento de embriões e plântulas de *Coffea arabica* L. oriunda de embriogênese somática direta**. 2005. 58 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.
- SALES, N. L. P.; CASTRO, H. A. Efeito da população fúngica sobre a germinação das sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nich. e barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Couville). **Ciência e Prática**, Lavras, v. 18, n. 1, p. 83-89, jan./mar. 1994.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user guide**. 4. ed. Cary, 1990.
- SOARES, F. P. **Aspectos do cultivo *in vitro* da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**. 2005. 120 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.
- ZANIOLO, S. R.; ZANETTE, F. Micropropagação de erva-mate a partir de segmentos nodais. **Scientia Agrária**, Curitiba, v. 2, n. 1/2, p. 31-36, 2002.
- ZAYAT, A. G.; RANAL, M. A. Germinação de sementes de capiçova. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 1205-1213, 1997.