

Desenvolvimento de protocolo para microenxertia do tomateiro *Lycopersicon esculentum* Mill

Ozimar de Lima Coutinho^{1*}, Mailson Monteiro do Rego², Elizanilda Ramalho do Rego², Mario Couquiti Kitamura¹, Luciano Façanha Marques² e Leonildo de Paula Farias Filho¹

¹Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Roraima, Br. 174, Km 12, s/n, 69301-970, Boa Vista, Roraima, Brasil. ²Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba, Brasil. Autor para correspondência. E-mail: mazola57@hotmail.com

RESUMO. A murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*, é a principal doença vascular de plantas em todo o mundo. O agente causal é uma bactéria que ocorre em todas as regiões do Brasil, predominando em condições de umidade e temperatura elevadas, fatores propícios ao desenvolvimento do patógeno. Este agente causal é de difícil controle, pois sobrevive nos mais diversos hospedeiros, especialmente Solanaceas, além de outras famílias de importância alimentar, condimentar e medicinal. O uso de espécies do gênero *Solanum* na enxertia convencional e minienxertia em tomateiro *Lycopersicon esculentum* é limitada em função da incompatibilidade. Neste trabalho, utilizou-se o método da microenxertia para obtenção de plantas resistentes a doenças como a murcha bacteriana, tendo como cavalo a espécie *Solanum palinacanthum* Dun. Utilizaram-se dois métodos de microenxertia: convencional em T-invertido e corte em bisel. Foram testados meios de culturas para execução das duas práticas de micropropagação; para isso, realizou-se experimento em diferentes condições ambientais, com presença e ausência de luminosidade e diferentes tratamentos correspondentes a teores de açúcares e sais, submetidos a cinco avaliações com intervalos semanais. Melhor resultado foi encontrado quando se utilizou microenxertia em T-invertido e meio de cultura constituído de sais de MS1/8 de força acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose.

Palavras-chave: Solanaceae, murcha bacteriana, *Ralstonia solanacearum*, micropropagação, cultura *in vitro*.

ABSTRACT. **Developmental of protocol for micrografting to tomato *Lycopersicon esculentum* Mill.** The bacterial wilt, caused by *Ralstonia solanacearum*, is the most important vascular disease among plants in the world. The causal agent is a strain of bacteria found in all regions of Brazil, mainly in places with high humidity and temperature. This bacterium is difficult to control with chemical products, being able to survive in diverse hosts, especially in species of Solanaceae as well as other families of great food, condimental, or medicinal importance. The use of species of the genus *Solanum* has been attempted, but the practice of grafting and micrografting of tomato *Lycopersicon esculentum* is limited by incompatibility. In this work, the micrografting method was used to obtain resistant plants using the species *Solanum palinacanthum* Dun., which features a series of interesting characteristics from a commercial point of view, mainly the resistance to diseases that are difficult to control, as in the case of bacterial wilt. For this, two methods of micrografting were used – the conventional inverted T method; and the Bisel cut method. The experiment was submitted to five evaluations in weekly intervals. It was determined that MS salt medium in the 1/8 concentration, added to sucrose (30 g L⁻¹), showed to be suitable for the practice of micrografting using the inverted T method.

Key words: Solanaceae, bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*, micropropagation, *in vitro* culture.

Introdução

Em 2005, a produção mundial de frutos de tomates ultrapassou 124,8 milhões de toneladas, sendo 60-65% dessa produção processada pela indústria alimentícia. Nesta estimativa, o Brasil ocupa a nona posição, com produção de 3.452.970 toneladas, e o sexto lugar em produtividade, com 58 toneladas por hectare (FAO, 2007).

Em ordem de importância econômica, o tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) é superado pela batata, e os Estados maiores produtores, em ordem decrescente, são: Goiás, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Bahia e Paraná (IBGE, 2007; IOST et al., 2008).

A olericultura vem sofrendo em sua cadeia produtiva, nos últimos tempos, mudanças bruscas,

principalmente com a abertura do Mercosul e a formação de blocos econômicos europeus e americanos. Hortaliças como produtos de atividades empresariais têm crescido na esfera nacional e mundial; na região norte-brasileira, no entanto, o crescimento foi pouco significativo (IBGE, 2007).

Em Roraima, o cultivo de tomateiro vem expandindo principalmente na região do lavrado, ou seja, savanas, com período seco prolongado e elevadas temperaturas, predominando latossolo amarelo com baixa fertilidade natural e elevada acidez. Esses aspectos, associados ao baixo nível tecnológico empregado, têm contribuído para a baixa produtividade da cultura, em torno de 11,74 t ha⁻¹. Essa baixa produtividade do tomateiro, no Estado de Roraima, associa-se também à susceptibilidade a doenças, principalmente bacterianas, mais destrutivas e limitantes da produção em áreas úmidas e temperaturas elevadas das regiões de clima tropical e subtropical, como Norte e Nordeste do Brasil (KIMATI et al., 1997).

No Brasil, a bactéria *Ralstonia solanacearum* ocorre especialmente em regiões de baixadas e solos, onde faz parte da microflora nativa, como os Estados do Maranhão, Amazonas e Pará. Nestes, a bacteriose torna-se fator limitante ao desenvolvimento da tomaticultura, e os prejuízos causados pela doença podem ser totais, influenciados por temperatura, solo, intensidade luminosa e microrganismos antagonistas ou sinérgicos (COELHO NETO et al., 2003).

A microenxertia surgiu como alternativa economicamente viável, em curto prazo, para controle de doenças, principalmente de origem virótica, bacteriana (SINGH et al., 2008), assim como obtenção de mudas livres de fitopatógenos, resgate de embriões (SIMON; LITZ, 2005) e detecção de alguns casos de incompatibilidade (WU et al., 2007; DANTHU et al., 2004), visto que a enxertia convencional, sobre porta-enxertos selvagens e resistentes do gênero *Solanum*, na Região Norte do Brasil, já é uma prática constante por produtores.

Uma das espécies utilizadas como porta-enxerto tem sido a jurubebeira (*Solanum palinacanthum* Dun.), por ser planta adaptada à região, apresentando porte arbustivo de ocorrência comum, pouco exigente em solos, vegetando sob plena luz, características próprias das regiões amazônicas e nordestinas.

Variedades resistentes têm sido pesquisadas como porta-enxertos por meio de espécies selvagens tolerantes à doença, entretanto, os frutos não expressam aceitação comercial.

Este trabalho tem como objetivos ajustar um meio de cultivo, testando diferentes concentrações de sais do meio MS (MURASHIGE; SKOOG,

1962) e de sacarose, em diferentes regimes de luz, para dar suporte à multiplicação *in vitro* e microenxertia de tomateiro utilizando a jurubebeira como micro-porta-enxertos.

Material e métodos

Foram utilizadas, neste trabalho, plântulas de tomateiros e jurubebeiras cultivadas *in vitro*, oriundas de sementes coletadas no campo e no banco de germoplasma da Universidade Federal de Roraima – UFRR, desinfestadas por meio de extrato etanólico de *Lippia microphylla* Cham. diluída em álcool etílico 70%, na proporção de 1:7,5, a partir de uma solução estoque de 1 mg m L⁻¹.

A coleta dos frutos de jurubebeiras *Solanum palinacanthum* Dun., para obtenção de sementes, foi realizada no início do verão de 2007, no Campus do Cauamé da Universidade Federal de Roraima, de latitude 2° 49' 7" N e longitude 60° 39' 45" W, com altitude de 90 m acima do nível do mar; o clima, segundo classificação de Köpen, é Aw, com período seco definido, precipitação média anual de 1.584,1 mm e umidade relativa do ar de 76%.

Os três pontos de coleta das sementes foram georreferenciados com uso do GPS, os quais apresentaram as seguintes coordenadas: ponto 1 - N 02° 52' 21,5", W 60° 42' 41,3"; ponto 2 - N 02° 51' 32,6", W 60° 37' 25,3"; ponto 3 - N 02° 51' 32,7", W 60° 37' 25,4".

O material coletado foi encaminhado ao Herbário do Instituto de Pesquisa da Amazônia (INPA-AM), para identificação, e classificado como pertencente à espécie *Solanum palinacanthum* Dun.

Visando ao desenvolvimento de protocolo para microenxertia do tomateiro, foram estabelecidos três experimentos. No primeiro experimento, cujo objetivo era avaliar a interação das concentrações de sais do meio MS e em condições de cultivo (claro e escuro) na micropropagação de jurubebeira (*Solanum palinacanthum* Dun.) e tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), empregou-se o experimento fatorial simples, consistindo de cinco concentrações de sais e dois regimes de luz: a) claro (fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro); e b) escuro (escuro total), e cada tratamento apresentou quatro repetições, no delineamento inteiramente ao acaso. As concentrações utilizadas foram: meio MS 0,0 de sais; meio MS normal; meio MS ½ de força; meio MS ¼ de força e meio MS ⅛ de força. Após 30 dias da inoculação, foram avaliadas as seguintes características: comprimento e diâmetro em (mm) do explante, medidos com auxílio de um paquímetro. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa Genes (CRUZ, 2004).

No segundo experimento, visando avaliar as concentrações de sacarose também em dois regimes de luz para a micropropagação da jurubebeira e tomateiro, empregou-se o delineamento estatístico em fatorial simples com sete concentrações de sacarose (0,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0 e 30 g L⁻¹) e dois regimes de luz: claro (16h de luz e 8h de escuro) e escuro total, e cada tratamento apresentou cinco repetições. Os meios foram os mesmos utilizados no primeiro experimento inoculados com segmentos de hipocótilos de jurubebeira e tomateiro com 10 mm de comprimento. Após 30 dias da inoculação, foram avaliadas as seguintes características: comprimento e diâmetro do explante em (mm), com auxílio de um paquímetro. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa Genes (CRUZ, 2004).

Após a determinação da concentração ótima de macro e micronutrientes, de sacarose e do melhor regime de luz, instalou-se o terceiro experimento para avaliar qual o melhor método para realizar a microenxertia, no qual se utilizaram dois tipos: T-invertido e corte em bisel. Para tanto, como micro-porta-enxertos foram utilizados dez explantes de jurubebeiras, medindo 10 mm de comprimento, micropropagados *in vitro*; como microenxertos, dez explantes (ápices caulinares) de tomateiro também oriundos de plantas micropropagadas *in vitro*. Seguindo a metodologia proposta neste trabalho, com uso de pinça estéril em câmara de fluxo laminar, retiraram-se as mudas das espécies cavalos (jurubebeiras) e cavaleiros (tomateiros) cultivadas *in vitro*; iniciou-se o processo de eliminação de cotilédones e gemas cotiledonares, decaptando-se parte do epicótilo e da raiz do cavalo, deixando-o com aproximadamente 10 mm; seguiu-se o corte do ápice caulinar com dois ou três primórdios foliares medindo 0,1 a 0,2 mm, para enxerto no cavalo, mantendo as partes envolvidas na microenxertia umedecidas com solução antioxidante, conforme recomenda Onay et al. (2004). Efetuou-se o corte no cavalo em forma de T-invertido, com auxílio de bisturi. Em seguida, executou-se a inserção do microenxerto do cavaleiro na fenda inferior horizontal do T-invertido. Para finalizar, com auxílio de pinça, introduziu-se a plântula microenxertada em tubo de ensaio contendo meio de cultura MS normal, acrescida de 30 g L⁻¹ de sacarose; acondicionou-se em câmara de cultura com temperatura de 27°C e luminosidade controlada em 50 a 60 mmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16h de luz, por quatro semanas.

Resultados e discussão

Verificou-se que não houve interação significativa entre as diferentes concentrações de sais do meio MS e os regimes de luz (claro e escuro)

quanto ao comprimento e ao diâmetro do caule do tomateiro. As diferentes concentrações de sais do meio MS aplicadas em tomateiro e jurubebeira não diferiram entre si, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste F, em relação às duas características avaliadas individualmente (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Resumo da análise de variância das características de comprimento e diâmetro de caule de tomateiro *in vitro* em relação a diferentes concentrações de sais no claro e no escuro, respectivamente.

FV	GL	Claro		Escuro	
		Comp. (mm)	Diâmetro (mm)	Comp. (mm)	Diâmetro (mm)
Tratam.	4	0,0063 ^{ns}	1,6398 ^{ns}	0,0064 ^{ns}	0,0116 ^{ns}
Resíduo	15	0,0024	1,7115	0,0036	0,0150
CV (%)		72,2702	273,98	117,57	87,7147

^{ns}Não-significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade; C.V. = coeficiente de variação.

Tabela 2. Resumo da análise de variância das características de comprimento e diâmetro de caule de jurubebeiras *in vitro* em relação a diferentes concentrações de sais no claro e no escuro, respectivamente.

FV	GL	Claro		Escuro	
		Comp. (mm)	Diâmetro (mm)	Comp. (mm)	Diâmetro (mm)
Tratam.	4	0,3158 ^{ns}	0,2280 ^{ns}	0,0041 ^{ns}	3,8064 ^{ns}
Resíduo	15	0,0121	2,0073	0,0041	1,9995
TOTAL	19	0,3087	31,0220	0,0781	45,2195
Média		0,1440	0,9300	0,0705	0,8550
CV (%)		76,5780	152,34	90,8982	165,38

^{ns}Não-significativo pelo teste F, a 5% de probabilidade; C.V. = coeficiente de variação.

No segundo experimento foram avaliadas diferentes concentrações de sacarose e dois diferentes regimes de luz (claro e escuro) e sua influência sobre o processo de micropropagação e jurubebeira. Em relação a jurubebeira, detectou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos, nem para a interação (dados não-apresentados); no entanto, no tomateiro foi observado efeito significativo apenas na interação tratamento x ambiente (Tabela 3). No desdobramento da interação, observou-se que foi significativa apenas a interação das diferentes concentrações de sacarose no ambiente claro (Trat / Amb 1) (Tabela 3).

Tabela 3. Resumo da análise de variância das características diâmetro de caule de tomateiro *in vitro* em relação a diferentes concentrações de sacarose nos ambientes claro e escuro, respectivamente.

FV	GL	QM	F
Tratamentos	6	0,00328	0,3066 ^{ns}
Ambientes	1	0,000003185	0,00013 ^{ns}
Trat. x Amb.	6	0,0107	4,37294*
Trat/Amb	12	0,00699	2,85684*
Trat/Amb 1	6	0,00939	3,83650*
Trat/Amb 2	6	0,00459	1,87718 ^{ns}
Resíduo	56	0,00245	
Total	69		
Média		0,053	
CV (%)		93,323672	

^{ns}; *não-significativo e significativo a 5% de probabilidade, respectivamente; Amb 1 = ambiente claro; Amb 2 = ambiente escuro; C.V. = coeficiente de variação.

Na comparação entre as médias pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade, a concentração de 30 g L⁻¹ de sacarose foi mais efetiva quanto ao crescimento em diâmetro do explante (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação entre as médias de diâmetro de explantes de tomateiro cultivados em diferentes concentrações de sacarose em relação ao diâmetro do explante na presença da luz¹.

Tratamentos	Médias de diâmetro do explante
1 – MS + 0,0 g L ⁻¹ de sacarose	0,052 ^{ab}
2 – MS + 5,0 g L ⁻¹ de sacarose	0,058 ^{ab}
3 – MS + 10,0 g L ⁻¹ de sacarose	0,094 ^{ab}
4 – MS + 15,0 g L ⁻¹ de sacarose	0,032 ^b
5 – MS + 20,0 g L ⁻¹ de sacarose	0,068 ^{ab}
6 – MS + 25,0 g L ⁻¹ de sacarose	0,028 ^b
7 – MS + 30,0 g L ⁻¹ de sacarose	0,106 ^a

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

Analisando a percentagem de sobrevivência dos microenxertos, realizados pelos dois métodos de microenxertia (corte em T-invertido e em bisel), verificou-se que o método em T-invertido mostrou-se mais eficiente do que o corte em bisel, atingindo, ao final de quatro semanas, 50% de sobrevivência; já a taxa de sobrevivência dos microenxertos do corte em bisel foi nula (Tabela 5 e Figura 1). Resultados similares foram obtidos por Mneney e Mantell (2001) e Gulati et al. (2001).

Tabela 5. Percentagem de sobrevivência dos microenxertos de tomateiro em jurubebeira, no período de quatro semanas após a operação de microenxertia, utilizando os métodos de corte em T-invertido e bisel.

Época	Método de microenxertia	Número de Plantas microenxertadas	Sobrevivência (%)
1ª Semana	T-invertido	10	100
2ª Semana	T-invertido	10	60
3ª Semana	T-invertido	10	60
4ª Semana	T-invertido	10	50
1ª Semana	Bisel	10	90
2ª Semana	Bisel	10	70
3ª Semana	Bisel	10	0,0
4ª Semana	Bisel	10	0,0

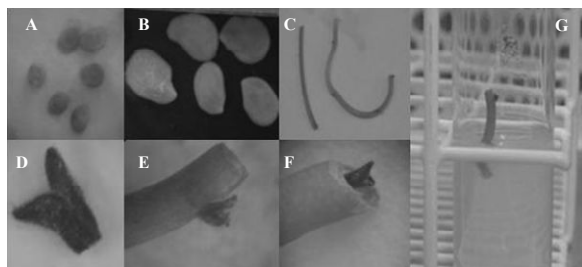


Figura 1. A: sementes de tomateiro; B: sementes de jurubebeira; C: explantes caulinares de jurubebeira (cavalos); D: gema apical de tomateiro (cavaleiro); E: gema microenxertada em T-invertido; F: gema microenxertada em corte bisel; G: explante caulinar microenxertado e cultivado em meio MS em câmara de cultivo.

No presente trabalho, não se detectaram respostas do tomateiro e da jurubebeira, nem

interação quanto a diferentes concentrações de sais do meio de cultura MS e os regimes de luz (claro e escuro), em relação ao comprimento e ao diâmetro do caule. Estes resultados discordam de Villa et al. (2006) e Santos et al. (2006) que obtiveram resultados significativos utilizando diferentes concentrações de sais do meio MS, trabalhando com amoreira preta (*Rubus* sp.) e com planta nativa ornamental (*Syngonanthus mucugensis* Giul.). Diniz et al. (1999) também obteve resultados positivos trabalhando com absorção de macronutrientes em bananeira cultivada *in vitro*. Ao adicionar ao meio de cultura MS os minerais inorgânicos P, S, K, Ca, Mg e Na, observou que o crescimento e a taxa de multiplicação eram associados à taxa de disponibilidade mineral e absorção.

A resposta de jurubebeira quanto ao efeito de diferentes concentrações de sacarose e dois regimes de luz para a micropropagação não foram significativas ($p > 0.05$) entre os tratamentos, nem para a interação. Para tomateiro, não foi observado efeito significativo para os tratamentos, porém a interação tratamento x ambiente foi significativa no ambiente claro.

Estes resultados discordam daqueles obtidos por Flores et al. (1999) que reportam efeitos positivos da adição da sacarose ao meio de cultura embriões e macieira (*Malus prunifolia* Willd, Borkh), nos quais verificaram maior desenvolvimento das brotações e gemas com o aumento das concentrações de sacarose. Entretanto, Paiva et al. (2004), analisando o crescimento *in vitro* de estrelícia (*Strelitzia reginae* Banks.), concluíram que, com o transcorrer de 140 dias, os embriões obtiveram melhores taxas de crescimento da parte aérea quando utilizaram 20,64 g L⁻¹ de sacarose, regredindo este índice para uma inibição abrupta com taxa zero de sacarose ou quando elevada para 60 g L⁻¹. Rognoni et al., (2007), avaliaram de diferentes concentrações de sacarose e intensidades de luz sobre o crescimento e desenvolvimento de plântulas de *Arabidopsis* e verificaram que altas concentrações de sacarose exógena impede a germinação e o desenvolvimento dos cotilédones e também o enraizamento. Maior percentual de enraizamento foi conseguido com 20 g L⁻¹ de sacarose; entretanto, a formação de raízes secundárias baixou de 80% em 30g L⁻¹ de sacarose para 0,0% na ausência de sacarose.

Na microenxertia, observou-se que a percentagem de sobrevivência dos microenxertos conduzidos por um período de quatro semanas, quando se utilizou a metodologia do corte em T-invertido, mostrou-se mais eficiente que corte em bisel, atingindo, ao final de quatro semanas, a taxa de

sobrevivência de 50 e 0%, respectivamente. Possivelmente, esse percentual de sobrevivência do microenxerto apresentaria melhores resultados se fossem utilizados reguladores de crescimento no ponto de enxertia, conforme resultados positivos obtidos por Onay et al. (2004), Mneney e Mantel (2001) e Sanjaya et al. (2006) quando foram utilizados reguladores de crescimento no ponto de enxertia, aumentando significativamente a viabilidade dos enxertos. Outra explicação para a baixa taxa de sobrevivência dos microenxertos na quarta semana pode ser a oxidação dos tecidos. Singh et al. (2008), trabalhando com microenxertia de citrus, verificaram que o processo de oxidação prejudicou o pegamento dos enxertos. Eles recomendam usar uma solução antioxidante para mergulhar o explante, ou aplicar uma gota do antioxidante sobre o porta-enxerto, imediatamente antes de colocar o cavaleiro.

A microenxertia de tomateiro em jurubebeira ainda é pouco pesquisada, portanto existem grandes lacunas, tais como tamanho de explantes, concentrações de reguladores de crescimentos, usos de antioxidantes, que poderão contribuir para o sucesso de pegamento e sobrevivência dos microenxertos.

Conclusão

Não houve interação significativa entre diferentes concentrações de sais do meio MS e regimes de luz quanto ao comprimento e diâmetro do caule do tomateiro.

Para jurubebeira, não houve diferença significativa entre os tratamentos (diferentes concentrações de sacarose em dois regimes de luz), nem para a interação. Para o tomateiro, no entanto, não foi observado efeito significativo para tratamentos, embora a interação tratamento x ambiente tenha sido significativa.

Verificou-se que o método em T-invertido apresentou-se mais eficiente do que o corte em bisel, considerando percentagem de sobrevivência dos microenxertos.

Referências

COELHO NETO, R. A.; NODA, H.; BOHER, B. Agressividade de isolados de *Ralstonia solanacearum* provenientes de solanáceas no estado do Amazonas. **Summa Phytopathologica**, v. 29, n. 2, p. 208-211, 2003.

CRUZ, C. D. **Programa Genes**: versão Windows: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2004.

DANTHU, P.; TOURÉ, M. A.; SOLOVIEV, P.; SAGNA, P. Vegetative propagation of *Ziziphus mauritiana* var. Gola by micrografting and its potential for

dissemination in the Sahelian Zone. **Agroforestry System**, v. 60, n. 3, p. 247-253, 2004.

DINIZ, J. D. N.; GONÇALVES, A. N.; HERNANDES, F. F. F.; TORRES, A. C. Absorção de macronutrientes por explantes de bananeira *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 7, p. 1201-1209, 1999.

FAO-Food and Agriculture Organization. **Regional Office for the Near East**. Riverside: FAO, 2007.

FLORES, R.; LESSA, A. O.; PETER, J. A.; FORTES, G. R. L. Efeito da sacarose e do benomyl na multiplicação *in vitro* da macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 12, p. 2363-2368, 1999.

GULATI, A.; SCHRYER, P.; MCHUGHEN, A. Regeneration and micrografting of lentil shoots. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v. 37, n. 6, p. 798-802, 2001.

IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE, 2007.

IOST, C. A. R.; FERREIRA, M. C.; MARTINELLI N. M.; MACCAGNAN, D. H. B. Avaliação de volumes de calda proporcionados por diferentes pontas de pulverização no controle de *Tuta absoluta* (Meirick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomate rasteiro. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 5, p. 619-624, 2008.

KIMATI H. **Manual de fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997.

MNENEY, E. E.; MANTELL, S. H. *In vitro* micrografting of cashew. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 66, n. 1, p. 49-58, 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 43, p. 473-497, 1962.

ONAY, A.; PIRINÇ, V.; YILDIRIM, H.; BASARAN, D. *In vitro* micrografting of mature pistachio (*Pistacia vera* var. Siirt). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 77, n. 2, p. 215-219, 2004.

PAIVA, P. D. O.; PAIVA, R.; PASQUAL, M.; PAIVA, L. V. Estabelecimento *in vitro* de estrelícia (*Strelitzia reginae* Banks.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 5, p. 1031-1037, 2004.

ROGNONI, S.; TENG, S.; ARRU, L.; SMEEKENS, S. C. M.; PERATA, P. Sugar effects on early seedling development in Arabidopsis. **Plant Growth Regulation**, v. 52, n. 3, p. 217-228, 2007.

SANJAYA; MUTHAN, B.; RATHORE, T. S.; RAI, V. R. Factors influencing *in vivo* and *in vitro* micrografting of sandalwood (*Santalum album* L.): an endangered tree species. **Journal of Forest Research**, v. 11, n. 3, p. 147-151, 2006.

SANTOS, J. P.; DORNELLES, A. L. C.; SILVA, J. R. S.; SANTANA, J. R. F.; LIMA-BRITO, A. Ajuste do meio MS Para o cultivo *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* giulietti, espécie ameaçada de extinção. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 6, n. 1, p. 36-39, 2006.

SIMON, H. T.; LITZ, R. E. Micrografting and *ex vitro*

grafting for somatic embryo rescue and plant recovery in avocado (*Persea americana*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 82, n. 1, p. 1-9, 2005.

SINGH, B.; SHARMA, S.; RANI, G.; HALLAN, V.; ZAIDI, A. A.; VIRK, G. S.; NAGPAL, A. *In vitro* micrografting for production of Indian citrus ringspot virus (ICRSV)-free plants of kinnow mandarin (*Citrus nobilis* Lour × *C. deliciosa* Tenora). **Plant Biotechnology Reports**, v. 2, n. 2, p. 137-143, 2008.

VILLA, F.; FRAGUAS, C. B.; DUTRA, L. F.; PIO, L. A. S.; PASQUAL, M. Multiplicação *in vitro* de Amoreira preta Cultivar Brazos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 2, p. 266-270, 2006.

WU, H. C.; TOIT, E. S.; REINHARDT, C. F. Micrografting of *Protea cynaroides*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 89, n. 1, p. 23-28, 2007.

Received on August 25, 2007.

Accepted on February 27, 2008.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.