

# ANATOMIA FOLIAR DE *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich. (Bignoniaceae) PROPAGADAS *IN VITRO*, *IN VIVO* E DURANTE A ACLIMATIZAÇÃO

## Leaf anatomy of *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich. (Bignoniaceae) propagated *in vitro*, *in vivo* and during the acclimatization

Sara Dousseau<sup>1</sup>, Amauri Alves de Alvarenga<sup>2</sup>, Evaristo Mauro de Castro<sup>3</sup>,  
Roberta Pereira Soares<sup>4</sup>, Eduardo Bucsán Emrich<sup>5</sup>, Lucas Amaral de Melo<sup>6</sup>

### RESUMO

As mudas propagadas por técnicas de micropropagação geralmente apresentam alterações significativas induzidas pelas condições *in vitro*, que diminuem a capacidade de sobrevivência após a transferência para o ambiente *ex vitro*, sendo fundamental a avaliação da mudança estrutural durante o processo de adaptação. Objetivou-se com este trabalho, identificar as diferenças anatômicas foliares entre plantas de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich. (ipê amarelo), cultivadas *in vitro*, *in vivo* e durante a aclimatização. Foram utilizadas plântulas mantidas por 43 dias em sala de crescimento, com 20, 40, 60 e 80 dias de aclimatização e mudas de 90 dias cultivadas em viveiro. As plântulas foram obtidas via cultura de embriões em meio MS e transplantadas para tubetes contendo plantmax®, para aclimatização em viveiro, sob 50% de sombreamento. Nas mesmas condições da aclimatização, foram produzidas as mudas *in vivo*. Cortes transversais e paradérmicos foram preparados de acordo com técnicas usuais em microtecnia vegetal. As plântulas *in vitro* apresentam os tecidos foliares pouco diferenciados e estômatos maiores e mais abertos, exigindo maiores cuidados na etapa inicial de aclimatização. Aos 60 dias de aclimatização as novas folhas produzidas possuem alguns aspectos anatômicos que podem conferir maior eficiência fotossintética e maior capacidade de regulação hídrica das plantas.

**Termos para indexação:** Ipê-amarelo, planta medicinal, micropropagação.

### ABSTRACT

The seedlings spread by micropropagation techniques, usually show significant alterations induced by the conditions *in vitro*, which decrease the survival capacity after the transfer to conditions *ex vitro*. The evaluation of the structural change during the acclimatization is necessary for the understanding of this adaptation process. The objective of this research was to identify the anatomical differences among the seedlings cultivated *in vitro*, *in vivo* and acclimatized plants of *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich. (yellow ipe), species with great medicinal and ornamental interest. One used seedlings maintained for 43 days in growth chamber, with 20, 40, 60 and 80 days of acclimatization and seedlings after 90 days of cultivation *in vivo*. Seedlings were obtained from culture of embryos in half BAD and transplanted to tubes containing plantmax®, for acclimatization in nursery house under 50% of shad. In the same conditions of the acclimatization the seedlings *in vivo* were produced. Transversal and paradermal sections were prepared using the usual microtechniques. The results showed that the seedlings *in vitro* have the leaf tissue little differed and the stomata are open and bigger, demanding greater cares in the initial stage of acclimatization. At 60 days of acclimatization the new leaves produced have some anatomical aspects that can originate higher photosynthetic efficiency and better water regulation capacity of the plants.

**Index terms:** Yellow ipe, medicinal plant, micropropagation.

(Recebido em 22 de setembro de 2006 e aprovado em 30 de maio de 2007)

### INTRODUÇÃO

*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson  
(Bignoniaceae), conhecida popularmente como ipê-amarelo

é uma espécie arbórea que atinge de 5-25m de altura. Ocorre no Brasil, Guiana Francesa, Guiana, Suriname, Venezuela, Colômbia, Equador, Peru e Bolívia. No Brasil, estende-se da Amazônia e Nordeste até São Paulo. É uma espécie

<sup>1</sup>Mestranda em Fisiologia Vegetal – Departamento de Biologia/DBI – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – saradousseau@yahoo.com.br – Bolsista PIBIC/CNPq

<sup>2</sup>Doutor, Professor Titular – Departamento de Biologia/DBI – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – amauriaa@ufla.net.br – Bolsista de produtividade CNPq

<sup>3</sup>Doutor, Professor Adjunto – Departamento de Biologia/DBI – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – emcastro@ufla.br

<sup>4</sup>Mestranda em Agroquímica – Departamento de Química/DQI – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – pereira-soares@uol.com.br

<sup>5</sup>Mestrando em Fitotecnia – Departamento de Agricultura/DAG – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – bucsan\_emrich@yahoo.com.br

<sup>6</sup>Mestrando em Ciências Florestais – Departamento de Engenharia Florestal/DEF – Universidade Federal de Viçosa/UFV – 36571-000 – Viçosa, MG – samelinho@yahoo.com.br

característica das florestas pluviais densas, desde o nível do mar até altitudes de 1200m, ocorrendo também em florestas secundárias e campinas (FERREIRA et al., 2004).

O ipê-amarelo possui interesse econômico madeireiro, ornamental e medicinal. A madeira é empregada em marcenaria, construções pesadas e estruturas externas, tanto civis quanto navais. A árvore é utilizada em paisagismo e arborização urbana por causa de suas atrativas flores amarelas (FERREIRA et al., 2004). O seu princípio ativo é o lapachol, uma naftoquinona que está presente tanto nas cascas do caule como na serragem da madeira (MATOS, 2000).

Várias espécies do gênero *Tabebuia* contêm na casca e no cerne do caule quantidades variáveis do lapachol e outras substâncias similares, dotadas de forte atividade bactericida (PARK et al., 2005), fungicida (PORTILLO et al., 2001), antifúngica (NÚÑEZ et al., 2004) e antitumoral (CHENNA et al., 2001).

A propagação dessa espécie é feita pela utilização de sementes que, apesar de produzidas em grande quantidade, apresentam problemas de germinação e conservação (OLIVEIRA et al., 2004, 2005). Para muitas espécies florestais de importância econômica ou que se encontram em extinção, a micropropagação tem sido uma ferramenta útil para a obtenção de mudas mais uniformes em larga escala, em tempo e espaço físico reduzidos. Entretanto, não existem relatos na literatura sobre a micropropagação do ipê-amarelo (RIBAS et al., 2005).

As mudas propagadas por técnicas de micropropagação geralmente apresentam alterações significativas induzidas pelas condições *in vitro*, as quais diminuem a capacidade de sobrevivência após a transferência para condições ambientais *ex vitro*. A elevada umidade relativa, baixa irradiância e utilização de açúcares no meio como fontes de carbono e energia, são os principais fatores que atuam na indução de alterações e funcionalidade de órgãos e tecidos, de plântulas provenientes da propagação *in vitro* (POSPÍŠILOVÁ et al., 1999).

Essas condições podem determinar a formação de plantas com morfologia, anatomia e fisiologia anormais, tornando a aclimatização crítica e limitante ao processo de micropropagação. Diversos estudos histológicos demonstraram que os órgãos vegetativos de plantas desenvolvidas *in vitro* apresentam tecidos e estruturas pouco diferenciados se comparados com plantas cultivadas em casa-de-vegetação (APÓSTOLO et al., 2005; LOURO et al., 2003). Além disso, o número e formato dos estômatos também são afetados, o que pode acarretar

uma maior ou menor eficiência fotossintética da planta (OSÓRIO et al., 2005).

O conhecimento das alterações morfológicas, de plantas desenvolvidas *in vitro*, é fundamental para o estabelecimento de protocolos eficazes à sobrevivência de plantas oriundas de ambientes controlados para as condições naturais. Objetivou-se neste trabalho estudar as diferenças anatômicas entre plantas de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich. cultivadas *in vitro*, *in vivo* e durante a aclimatização *ex vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais do Setor de Fisiologia Vegetal, no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, MG. Os tratamentos consistem de plantas cultivadas *in vitro*, *in vivo* e com 20, 40, 60 e 80 dias de aclimatização *ex vitro*.

Para o cultivo *in vitro*, foram utilizados como explantes embriões retirados de sementes de plantas de *Tabebuia serratifolia*, localizadas no campus da UFLA. A assepsia das sementes foi realizada com água sanitária comercial a 40%, durante 15 minutos e, em seguida, lavadas com água destilada autoclavada para remoção do excesso da solução desinfestante. O meio de cultura utilizado foi o MS completo (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar e o pH do meio ajustado em 6,0 e, em seguida, autoclavado por 15 minutos. Em câmara de fluxo laminar, os embriões foram retirados e inoculados em tubos de ensaios contendo 10 mL do meio, e incubados em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de 45 mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, e temperatura de 25 ± 1°C.

Após 43 dias em sala de crescimento, algumas plântulas foram coletadas, correspondendo o tratamento *in vitro* e outras levadas para aclimatização. Plântulas foram transplantadas para tubetes com 5 cm de diâmetro x 24,5 cm de altura (TG) contendo Plantmax<sup>®</sup> e, mantidas em viveiro sob 50% de sombreamento. As coletas foram realizadas aos 20, 40, 60 e 80 dias após o transplantio. As mudas que consistiram o tratamento *in vivo* foram produzidas pela germinação de sementes em Plantmax<sup>®</sup>, nas mesmas condições da aclimatização.

Utilizaram-se folhas totalmente expandidas, localizadas no terceiro nó, a partir do ápice, de 5 plantas de cada tratamento. Depois de retiradas, as folhas foram fixadas em F.A.A. 70% (formaldeído, ácido acético e álcool etílico), por 72 horas e posteriormente conservados em álcool 70% (JOHANSEN, 1940).

Os cortes transversais foram realizados com auxílio do micrótomo manual, clarificados com água sanitária 5% e corados com uma mistura de azul de astra e safranina (KRAUS & ARDUIM, 1997). Os cortes paradérmicos foram realizados manualmente, obtidos da epiderme abaxial e corados com safranina 1%. Foi utilizada glicerina 50% para a montagem das lâminas semipermanentes.

O número de estômatos por mm<sup>2</sup> foi determinado na região mediana da folha, de acordo com Laboriau et al. (1961). Em cada tratamento, foram utilizados quatro campos de cinco indivíduos para a contagem do número de estômatos e para a mensuração de células e tecidos. As determinações de espessura de células e tecidos, assim como as medições do diâmetro polar e equatorial dos estômatos, foram realizadas utilizando-se uma ocular micrometrada. As fotomicrografias foram feitas com auxílio do fotomicroscópio Olympus BX-60.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado e a análise estatística realizada com auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 1999), usando-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições de cultivo desse trabalho, as folhas de *Tabebuia serratifolia* possuem tricomas distribuídos principalmente ao longo da nervura, são hipoestomáticas e apresentam organização dorsiventral. A epiderme é uniestratificada, constituída por células de formato arredondado nas plântulas *in vitro* e, hexagonal à medida que ocorre a aclimatização (Figura 1 A - F).

O parênquima esponjoso das plantas *in vitro* e aquelas com 20 e 40 dias de aclimatização, apresentou de uma a duas camadas de células e espaços intercelulares menores que as plantas dos demais tratamentos, observando-se nelas de três a quatro camadas de células (Figura 1 A - C).

No mesofilo, o parênquima paliçádico foi constituído por uma camada, sendo que as células das plantas *in vivo* se apresentavam mais alongadas e justapostas do que nas condições *in vitro*. Nas plântulas *in vitro* e até os 40 dias de aclimatização, as células desse tecido apresentaram formato cônico, indicando um processo de diferenciação e espaços intercelulares maiores. Aos 60 e 80 dias de aclimatização, as células se assemelharam àquelas da condição *in vivo* (Figura 1 D - F).

Organização dorsiventral, folhas hipostomáticas, com paredes anticlinais sinuosas e estômatos do tipo anomocítico têm sido observados em várias espécies de *Tabebuia*. Entre as espécies desse gênero com as mesmas características podem-se destacar a *T. aurea* (Manso)

Benth & Hook (CABRAL et al., 2004), *T. alba* (Cham.) Sandwith. (BARBOSA-FILHO et al., 2004) e *T. avellaneda* Lor. ex Griseb e *T. chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl. (SOUZA & OLIVEIRA, 2004).

Na nervura central da região mediana do limbo foliar, o sistema vascular é constituído por um feixe vascular cilíndrico. No córtex, o tecido de sustentação está representado por colênquima do tipo angular, ocorrendo próximo à epiderme abaxial, na região da nervura central (Figura 1 G - L).

Com o desenvolvimento da nervura central, que aumentou sua espessura a partir da condição *in vitro* até a condição *in vivo* (Tabela 1), houve aumento também no número de células de xilema e floema que compõem o feixe condutor, assim como no seu tamanho e disposição (Figura 1 G - K).

De acordo com Alves & Angyalossy-Alfonso (2000) os fatores ambientais afetam as dimensões e até mesmo o arranjo dos elementos vasculares, na tentativa de garantir um aumento na segurança do transporte, quando a planta está sujeita a algum tipo de estresse (BAAS, 1982). El-Bahr et al. (2003) verificaram que *Phoenix dactylifera* L. cv. Zaghlool, obtida por propagação *in vitro*, apresentou o tecido vascular menos desenvolvido e com menor diferenciação que aquelas cultivadas *in vivo* e aclimatizadas.

Na Tabela 1, observa-se que as maiores espessuras de todos os tecidos do limbo foliar foram observadas em plantas estabelecidas nas condições *in vivo*, seguida das plantas com um maior número de dias de aclimatização, o que concorda com outros estudos sobre aclimatização de plantas micropropagadas como *Fragaria ananassa* Duch. (CALVETE et al., 2002) e *Quercus suber* L. (ROMANO & MARTINS-LOUCAO, 2003).

Nenhuma diferença foi encontrada na espessura das plantas submetidas às condições *in vitro* e aquelas com 20 dias de aclimatização.

Menor diferenciação do mesofilo, menor espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso, além de espaços intercelulares menores são modificações frequentemente observadas em folhas plantas *in vitro*, quando comparadas com plantas *in vivo*. Louro et al. (2003) e Romano & Martins-Loucao (2003) trabalhando respectivamente com *Quercus suber* L. e um híbrido de eucalipto (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex. Maiden × *E. urophylla* S.T. Blake), encontraram resultados semelhantes ao desse trabalho observando que ocorria aumento na diferenciação e na espessura dos tecidos com a aclimatização. Entretanto, Apóstolo et al. (2005) encontraram menor espessura desses tecidos, em plantas de *Cynara scolymus* L. aclimatizadas, em comparação com plantas estabelecidas em condições *in vitro*.

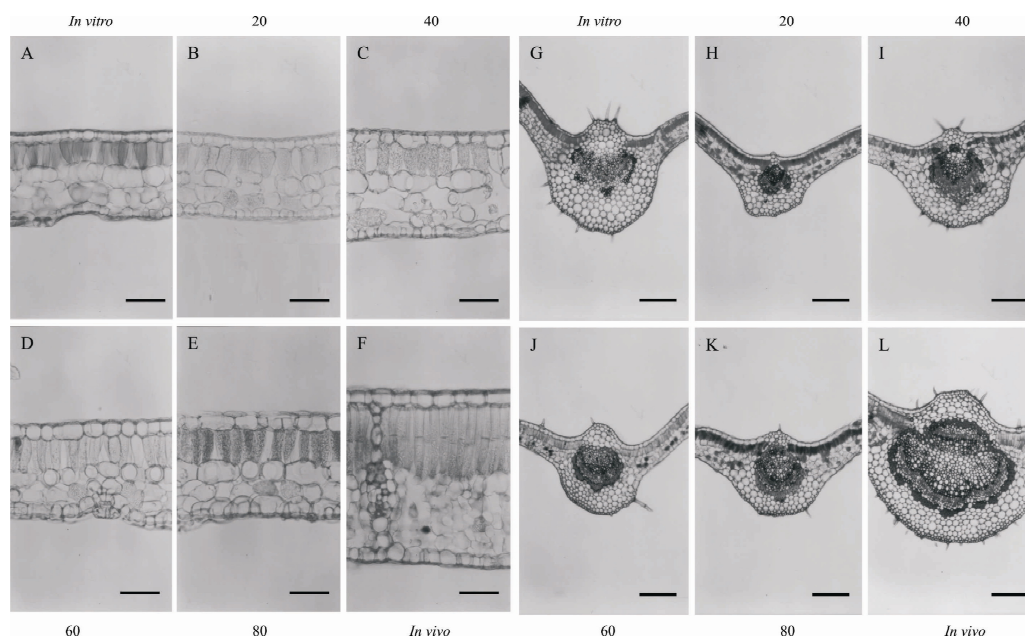


Figura 1 – Seções transversais do limbo foliar de *Tabebuia serratifolia*. A - F correspondem ao mesofilo e G - L, a nervura. A, G - propagação *in vitro*; B, H - 20 dias de aclimatização; C, I - 40 dias de aclimatização; D, J - 60 dias de aclimatização; E, K - 80 dias de aclimatização; F, L - *in vivo*. A barra de A - F corresponde a 50  $\mu\text{m}$  e de G a L a 100  $\mu\text{m}$ .

Tabela 1 – Espessura média ( $\mu\text{m}$ ) da nervura principal, dos tecidos e espessura total do limbo foliar de *Tabebuia serratifolia* obtidas pela propagação *in vitro*, submetidas aos diferentes períodos de aclimatização e plantas propagadas *in vivo*.

Tratamentos	Nervura	Epiderme Adaxial	Parênquima paliçádico	Parênquima esponjoso	Epiderme Abaxial	Espessura total
<i>In vitro</i>	351,39 c	16,29 c	24,71 b	56,97 d	14,99 b	112,91 d
20 dias	369,72 c	14,99 c	28,22 b	51,80 d	13,91 b	108,86 d
40 dias	373,20 c	17,87 b	29,39 b	47,92 c	14,90 b	106,97 d
60 dias	509,94 b	21,47 a	42,80 b	56,84 c	18,59 a	139,73 c
80 dias	524,79 b	22,50 a	69,08 a	65,48 b	19,71 a	149,49 b
<i>In vivo</i>	704,61 a	22,41 a	60,35 a	82,22 a	18,95 a	183,92 a

\*Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si.

A diferenciação de tecidos e a plasticidade na anatomia foliar é um fator importante no processo de absorção de luz, especialmente na estrutura do mesofilo. É esperado que quanto mais espesso o parênquima paliçádico, maiores sejam também as taxas fotossintéticas (BOLHAR-VORDENKAMPF & DRAXLER, 1993), processo esse fundamental ao crescimento e desenvolvimento vegetal.

Na epiderme da face abaxial, as paredes anticliniais das células ordinárias se apresentaram bastante sinuosas e com os estômatos do tipo anomocítico. Observou-se

ainda que, nas plântulas *in vitro*, os estômatos apresentaram o ostíolo mais aberto que nos demais tratamentos (Figura 2 A - F).

Nas plântulas *in vitro*, os estômatos apresentaram o diâmetro polar e equatorial maiores que nas plântulas aclimatizadas e nas produzidas *in vivo* (Tabela 2). Apesar da densidade estomática ser considerada um fator de alta plasticidade em decorrência da exposição das plantas a diferentes ambientes, não se observou nesse trabalho mudanças nesse parâmetro (Tabela 2).

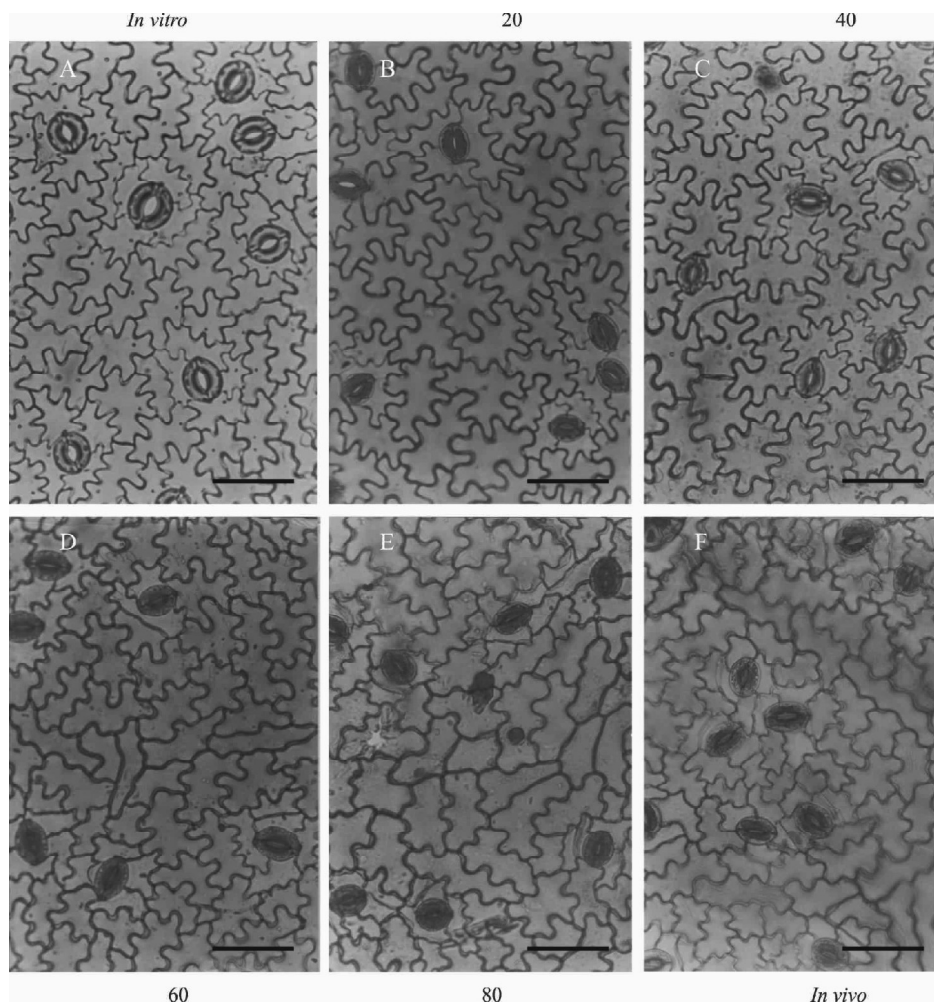


Figura 2 – Seções paradérmicas do limbo foliar de *Tabebuia serratifolia*. A- propagação *in vitro*; B- 20 dias de aclimatização; C- 40 dias de aclimatização; D- 60 dias de aclimatização; E- 80 dias de aclimatização; F- *in vivo*. A barra corresponde a 50  $\mu\text{m}$ .

Tabela 2 – Médias do número de estômatos/ $\text{mm}^2$ , diâmetro polar e equatorial dos estômatos na face abaxial de plantas de *Tabebuia serratifolia*, obtidas pela propagação *in vitro*, submetidas aos diferentes períodos de aclimatização e plantas propagadas *in vivo*.

Tratamento	Densidade ( $\text{mm}^2$ )	Diâmetro polar ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro equatorial ( $\mu\text{m}$ )
<i>In vitro</i>	116,18 a	33,21 a	24,89 a
20 dias	113,96 a	28,71 c	22,05 b
40 dias	111,74 a	30,02 b	21,33 b
60 dias	117,66 a	30,11 b	22,46 b
80 dias	116,18 a	29,48 c	21,38 b
<i>In vivo</i>	137,68 a	30,83 b	21,56 b

\*Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si.

O grau de abertura dos ostíolos dos estômatos pode ser um indicador do seu grau de funcionalidade quanto à resistência estomática do ambiente *in vitro*. Uma vez que a condição *in vitro* apresenta baixas trocas gasosas e não requer altas taxas de transpiração das plantas, espera-se uma alta abertura dos ostíolos em plantas submetidas a essa condição, o que pode ser comprovado nesse trabalho para *T. serratifolia* (Figura 1A), assim como para outras espécies, como *Phoenix dactylifera* (EL-BAHR et al., 2003).

### CONCLUSÃO

Todos os tecidos do mesófilo e a nervura central de plantas de ipê-amarelo estabelecidas *in vitro*, *in vivo* e durante a aclimatização mostram alterações adaptativas ao ambiente. Aos 60 dias de aclimatização, as novas folhas produzidas possuem alguns aspectos anatômicos que podem conferir maior eficiência fotossintética e maior capacidade de regulação hídrica das plantas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, E. S.; ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Ecological trends in the wood of some Brazilian species 1: growth rings and vessels. **IAWA Journal**, Amsterdam, v. 21, p. 3-30, 2000.
- APÓSTOLO, N. M.; BRUTTI, C. B.; LLORENTE, B. E. Leaf anatomy of *Cynara scolymus* L. in successive micropropagation stages. **In Vitro Cell Developmental Biological Plant**, [S.l.], v. 41, p. 307-313, May/June 2005.
- BAAS, P. Systematic, phylogenetic and ecological wood anatomy: history and perspectives. In: \_\_\_\_\_. **New perspectives in wood anatomy**. The Hague: M. Nijhoff, 1982. p. 23-58.
- BARBOSA-FILHO, J. M.; LIMA, C. S. A.; AMORIM, E. L. C.; SENA, K. X. F. R.; ALMEIDA, J. R. G. S.; CUNHA, E. V. L.; SILVA, M. S.; AGRA, M. F.; BRAZ-FILHO, R. Botanical study, phytochemistry and antimicrobial activity of *Tabebuia aurea* (with 1 table & 1 figure). **Phyton**, Buenos Aires, v. 4, n. 7, p. 221-228, 2004.
- BOLHAR-VORDENKAMPF, H. R.; DRAXLER, G. **Funcional leaf anatomy photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual**. London: Chapman & Hall, 1993.
- CABRAL, E. L.; BARBOSA, D. C. de A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore submetidas a estresse hídrico. **Acta Botânica Brasileira**, São Paulo, v. 18, n. 2, abr./jun. 2004.
- CALVETE, E. O.; AZEVEDO, M.; BORDIGNON, M. H.; SUZIN, M. Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas *in vitro* e *ex vitro*. **Horticultura Brasileira**, Passo Fundo, v. 20, n. 4, p. 649-653, dez. 2002.
- CHENNA, P. H.; DOCTOROVICH, V.; BAGGIO, R. F.; GARLAND, M. T.; BURTON, G. Preparation and Cytotoxicity toward Cancer Cells of Mono (arylimino) Derivatives of â-Lapachone. **Journal Medical Chemistry**, [S.l.], v. 44, p. 2486-2489, 2001.
- EL-BAHR, M. K.; ALI, Z. A.; TAHA, H. S. In vitro propagation of Egyptian date palm cv. Zaghloul: II. comparative anatomical studies between direct acclimatized and *in vitro* adapted (pre-acclimatized) plantlets. **Arab. Universities Journal of Agricultural Sciences**, Cairo, v. 11, n. 2, p. 701-714, 2003.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4.3 Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.
- FERREIRA, L.; CHALUB, D.; MUXFELDT, R. Ipê-amarelo: *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nichols. **Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia**, Maaus, v. 5, 2004.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. 2. ed. New York: Mc-Graw-Hill, 1940. 523 p.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: [s.n.], 1997. 198 p.
- LABOURIAU, L. G.; OLIVEIRA, J. G.; SALGADO-LABOURIAL, M. L. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo I. comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v. 23, p. 237-257, 1961.
- LOURO, R. P.; SANTIAGO, L. J. M.; SANTOS, A. V.; MACHADO, R. D. Ultrastructure of *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* plants cultivated *ex vitro* in greenhouse and field conditions. **Trees**, [S.l.], v. 17, p. 11-22, June 2003.
- MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 2. ed. Fortaleza: UFC, 2000.

- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NÚÑEZ, V.; OTERO, R.; BARONA, J.; SALDARRIAGA, M.; OSORIO, R. G.; FONNEGRA, R.; JIMÉNEZ, S. L.; DÍAZ, A.; QUINTANA, J. C. Neutralization of the edema-forming, defibrinating and coagulant effects of *Bothrops asper* venom by extracts of plants used by healers in Colombia. **Brazilian Journal Medical Biology Research**, [S.l.], v. 37, n. 7, p. 969-977, July 2004.
- OLIVEIRA, L. M. de; CARVALHO, M. L. M. de; GUIMARÃES, R. M.; MASETTO, T. E. Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley - (Bignoniaceae) pelo teste de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 2, p. 138-143, dez. 2004.
- OLIVEIRA, L. M. de; CARVALHO, M. L. M. de; SILVA, T. T. de A.; BORGES, D. I. Temperatura e regime de luz na germinação de sementes de *Tabebuia impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley e *T. serratifolia* Vahl Nich. – Bignoniaceae. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 642-648, maio/jun. 2005.
- OSÓRIO, M. L.; GONÇALVES, S.; OSÓRIO, J.; ROMANO, A. Effects of CO<sub>2</sub> concentration on acclimatization and physiological responses of two cultivars of carob tree. **Biologia Plantarum**, [S.l.], v. 49, n. 2, p. 161-167, 2005.
- PARK, B. S.; KIM, J. R.; LEE, S. E.; KIM, K. S.; TAKEOKA, G. R.; AHN, Y. J.; KIM, J. H. Selective growth-inhibiting effects of compounds identified in *Tabebuia impetiginosa* inner bark on human intestinal bacteria. **Journal Agricultural Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 1152-1157, 2005.
- PORTILLO, A.; VILA, R.; FREIXA, B.; ADZET, T.; CAÑIGUERAL, S. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.l.], v. 76, p. 93-98, 2001.
- POSPÍSILOVÁ, J.; TICHÁ, I.; KADLECEK, P.; HAISEL, D.; PLZÁKOVÁ, S. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. **Biologia Plantarum**, [S.l.], v. 42, p. 481-497, 1999.
- RIBAS, L. L. F.; ZANETTE, F.; KULCHETSCKI, L.; GUERRA, M. P. Micropropagação de *Aspidosperma polyneuron* (peroba-rosa) a partir de segmentos nodais de mudas juvenis. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 4, jul./ago. 2005.
- ROMANO, A.; MARTINS-LOUCAO, M. A. Water loss and morphological modifications in leaves during acclimatization of cork oak micropropagated plantlets. **Acta Horticulturae**, Leuven, n. 616, p. 439-442, 2003.
- SOUZA, L. A.; OLIVEIRA, J. H. G. Morfologia e anatomia das plântulas de *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb e *T. chrysotricha* (Mart. ex Dc.) Standl. (Bignoniaceae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 217-226, 2004.