

**RESGATE VEGETATIVO POR ALPORQUIA DE GENÓTIPOS ADULTOS DE
URUCUM (*Bixa orellana* L.)**

**VEGETATIVE RESCUE OF ADULT GENOTYPES OF ANNATTO (*Bixa orellana* L.)
BY AIR LAYERING**

Nilton César Mantovani¹ Magali Ferrari Grando² Aloisio Xavier³ Wagner Campos Otoni⁴

RESUMO

Este trabalho teve por objetivos avaliar a técnica de alporquia visando ao resgate vegetativo de genótipos de urucum (*Bixa orellana* L.) e a obtenção de plantas fornecedoras de propágulos para processos de propagação clonal. Foram utilizadas dez plantas matrizes de urucum, com 12 anos de idade, obtidas partindo do cruzamento artificial entre os genótipos “Fruto Verde Piloso” X “Fruto Vermelho Liso”. Os alporques foram realizados em ramos de 1 a 2 cm de diâmetro, utilizando-se como substrato uma mistura de vermiculita e musgo. Foi avaliado o efeito (1) do tipo de anelamento da casca dos ramos (total ou parcial), com 1 cm de comprimento, (2) do AIB (ácido indol-3-butírico a 0 e 4,92 mM) aplicado em papel filtro e (3) do tipo de proteção dos alporques (filmes plásticos transparente ou preto ou tecido tencel), no enraizamento de alporque dos dez genótipos. A técnica de alporquia proporcionou o enraizamento de ramos dos dez genótipos avaliados, com eficiência variável de 20 a 100%, havendo efeito do genótipo sobre a frequência de enraizamento. A sobrevivência desses alporques foi de 100% após o plantio quando estes foram produzidos com anelamento total, tratados com AIB e protegidos com plástico transparente. Em casa de vegetação os alporques desenvolveram ramos partindo da brotação de gemas caulinares constituindo estoques de explantes apropriados para serem utilizados como estacas ou como fontes de segmentos nodais para a propagação *in vitro* desta espécie.

Palavras-chave: brotos axilares; enraizamento; ácido indol-3-butírico.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the usefulness of an air layering technique for vegetative rescue of annatto (*Bixa orellana* L.) genotypes and obtainment of propagules for vegetative propagation. Ten 12 year-old annatto stock plants, whose genotypes are derived from artificial crossing between “Hairy-green capsule” X “Smooth-red capsule” were used in this study. Air layering adventitious roots were induced in branches (1-2 cm diameter) using as substrate a mixture of vermiculite and moss. The effects of (1) the type of girdling (total or partial), 1 cm in length, (2) IBA (indole-3-butyric acid at 0 and 4.92 mM) solution in paper filter and (3) the covering with either transparent or dark plastic films and tencel were evaluated. The technique of air layering provided rooted branches for the 10 genotypes evaluated, with efficiency ranging from 20 to 100%, and a genotype effect was observed on rooting frequency. Under greenhouse conditions, the survival of layers derived from totally girdled stems treated with IBA and protected with transparent plastic was

1. Engenheiro Florestal, Dr., Professor do Departamento de Engenharia Florestal, , Centro de Educação Superior Norte Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Santa Maria, Linha 7 de Setembro, BR 386, Km 40, CEP 98400-000, Frederico Westphalen (RS). mantovani@smail.ufsm.br
2. Bióloga, Ph.D, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Campus Universitário São José, CEP 99010-970, Passo Fundo (RS). magali@upf.br
3. Engenheiro Florestal, Dr., Professor do Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Av. P.H. Rolfs s/n, CEP 36570-000 Viçosa (MG). xavier@ufv.br
4. Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor do Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Av. P.H. Rolfs s/n, CEP 36570-000 Viçosa (MG). wotoni@ufv.br

Recebido para publicação em 17/10/2008 e aceito em 12/04/2010.

100%. Established layers provided vigorous branching from which shoot apices or nodal segment explants were obtained for *in vitro* establishment and propagation of this species.

Keywords: axillary shoots; rooting; indol-3-butyric acid.

INTRODUÇÃO

O urucum, *Bixa orellana* L. (Bixaceae), é uma planta lenhosa, originário da América Tropical, nativo nas florestas Amazônica e Atlântica (JOLY, 2002). É cultivado em diferentes regiões do Brasil onde também é conhecido popularmente como urucu, açafoa e açafoeira da terra. As sementes são fontes dos pigmentos carotenóides bixina e norbixina, amplamente utilizados pelas indústrias processadoras de alimentos, farmacêuticas e têxteis (LAURO, 1991; COLLINS e HUGHES, 1991; BOUVIER et al., 2003).

No Brasil, as plantações de urucum são estabelecidas predominantemente partindo de plantas propagadas por sementes (SÃO JOSÉ et al., 1999). Os plantios comerciais no País ocupam aproximadamente 12 mil hectares com produção de cerca de 12 mil toneladas anuais de sementes (IBGE, 2008). Em função da espécie apresentar polinização predominantemente cruzada, as progênies exibem alta variabilidade genética, fator que reflete em desuniformidade fenotípica, grande variação na produtividade de sementes e na composição dos pigmentos no produto final da extração (REBOUÇAS e SÃO JOSÉ, 1996). Os teores de bixina encontrados nas sementes, da maioria das variedades cultivadas no País, são inferiores a 2,5%, o mínimo exigido para que os grãos sejam classificados como tipo exportação (LIMA, 1991).

Estudos visando à propagação vegetativa do urucum foram desenvolvidos utilizando-se das técnicas de estaquia (SÃO JOSÉ et al., 1992), enxertia por garfagem (BRUCKNER et al., 1991; SÃO JOSÉ et al., 1992), e, por borbulhia (BRUCKNER et al., 1991). No entanto, tais metodologias, empregadas com a finalidade de reduzir a heterogeneidade entre plantas, para serem utilizadas em plantios comerciais, apresentam baixa eficiência para a propagação em larga escala da espécie (SÃO JOSÉ et al., 1999), especialmente quando são utilizados materiais vegetais adultos.

Um dos maiores desafios para a propagação vegetativa de espécies lenhosas é o envelhecimento ontogenético dos tecidos, que provoca baixa capacidade regenerativa (THORPE et al., 1991). A maioria das espécies lenhosas sofre mudanças

morfológicas, fisiológicas e bioquímicas durante a transição da fase juvenil para a adulta, sobretudo com relação ao potencial de clonagem, vigor de crescimento e resistência a doenças (WENDLING e XAVIER, 2001).

Técnicas que visam a reverter o estado maduro para um estado juvenil das plantas lenhosas, denominada de rejuvenescimento, ou provocar o retorno da planta a um estado de alto vigor fisiológico, denominada de revigoração (BONGA e VON ADERKAS, 1983), são empregadas em diferentes espécies lenhosas para induzir o crescimento de brotos juvenis e aumentar a produção de propágulos com maior potencial de enraizamento. Dentre essas técnicas, destaca-se a microestaquia e a micropropagação (XAVIER e COMÉRIO, 1997), o anelamento ou o uso do fogo na base do caule da árvore, o uso de galhos podados para a indução de brotações (ALFENAS et al., 2004), e, a miniestaquia seriada (WENDLING e XAVIER, 2005).

Estudos visando ao enraizamento e à indução de brotos em estacas de urucum, para a produção de miniestacas e explantes para o cultivo *in vitro*, revelaram que não houve enraizamento nem a formação de brotos aproveitáveis em sistema tradicional de cultivo. Esse fato foi atribuído à intensa exsudação de compostos mucilaginosos na base das estacas. No entanto, quando cultivadas em sistema hidropônico, estacas formaram brotos aproveitáveis para sistemas de propagação clonal (MANTOVANI, 2007).

Alternativamente às técnicas tradicionais de propagação vegetativa, estudos têm sido desenvolvidos visando ao cultivo *in vitro* do urucum (D'SOUZA e SHARON, 2001; SHA VALLI KHAN et al., 2002; PAIVA NETO et al., 2003a, b, c; CARVALHO et al., 2005; MANTOVANI, 2007; PARIMALAN et al., 2008). No entanto, a presença de micro-organismos como os fungos e bactérias, que ocorrem especialmente em explantes adultos, coletados de plantas em condições de campo, provocam elevados níveis de contaminação do material vegetal quando cultivado *in vitro* (NIEDZ e BAUSHER, 2002; MANTOVANI, 2007).

A alporquia, ou mergulhia aérea é uma técnica de propagação vegetativa que consiste

na indução e desenvolvimento de raízes em ramos ainda ligados à planta-matriz, por meio do anelamento da casca do ramo e estímulo dos tecidos lesionados à diferenciação radicial, com a aplicação ou não de fitorreguladores exógenos e, o envolvimento da região lesionada com substrato adequado (HARTMANN et al., 2002). Essa técnica tem proporcionado bons resultados para a propagação de algumas espécies lenhosas, tais como o umbuzeiro (*Spondias tuberosa*), a gravioleira (*Annona muricata*) (LEDERMAN et al., 1991), o pessegueiro (*Prunus persica*) (CASTRO e SILVEIRA, 2003) e o pequi (*Caryocar brasiliense*) (LEITE et al., 2007). O emprego dessa técnica se torna uma opção viável para o resgate vegetativo de genótipos de interesse.

São escassas as publicações na literatura que auxiliem na elucidação dos diversos aspectos envolvidos na propagação vegetativa do urucum e que forneçam subsídios que possam ser utilizados em processos de propagação clonal e melhoramento genético da espécie. Dessa forma, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar as potencialidades da técnica de alporquia como forma de resgate vegetativo de genótipos de urucum visando à produção de plantas fornecedoras de explantes que possam ser utilizados em processos de propagação clonal, como estaquia e cultura de tecidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados dez genótipos (plantas-matrizes) de urucum cultivados no Horto Botânico da Universidade Federal de Viçosa, obtidos partindo do cruzamento artificial entre as variedades “Fruto Verde Piloso” X “Fruto Vermelho Liso” (PINHEIRO e ALMEIDA, 1992).

As plantas-matrizes, com idade aproximada de 12 anos foram cortadas a 40 cm do solo para estimular a formação de novos ramos. Quando os ramos formados atingiram cerca de 1 a 2 cm de diâmetro e, aproximadamente 1,5 metros de altura, foram identificados e marcados para a produção dos alporques. Os alporques foram feitos por meio do anelamento total ou parcial da casca, com cerca de 1 cm de comprimento, com o auxílio de um estilete, a distâncias aproximadas de 30 cm acima da inserção dos ramos no caule. Uma faixa de 5 cm de casca, acima da região anelada, foi envolvida com papel filtro embebido em uma solução alcoólica a 50% de ácido indol-3-butírico (AIB) a

0 e 4,92 mM. Os alporques foram envolvidos com substrato composto de uma mistura de vermiculita de granulometria média e musgo (*Sphagnum* sp.). A proteção dos alporques foi feita em uma faixa de 15 cm, sobre a região de anelamento, com filmes plásticos flexíveis, transparentes ou pretos, ou ainda com o tecido tencel de cor branca, fixados nos ramos pelas duas extremidades.

Após o desenvolvimento do sistema radicular, os ramos foram destacados das plantas-matrizes por meio do corte a 5 cm abaixo da região do anelamento, constituindo, assim, os alporques. Estes foram plantados em vasos de PVC rígido com capacidade de 5 L contendo o substrato comercial Plantmax® e mantidos em casa de vegetação sob controle hídrico, fitossanitário e nutricional.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos em arranjo fatorial 10x2x2x3 (dez genótipos, duas formas de anelamento, duas concentrações de AIB e três formas de proteção dos alporques), com quatro repetições por tratamento sendo três alporques por repetição. Aos 30 dias, após a realização da alporquia, avaliou-se a porcentagem de alporques enraizados. Depois do plantio e transferência dos alporques para casa de vegetação, aos 30 dias, avaliou-se também a porcentagem de alporques vivos e com brotações de gemas caulinares.

A homogeneidade das variâncias dos tratamentos foi analisada pelos testes de Cochran e Bartlett, sendo que para a variável porcentagem de alporques enraizados, as médias foram transformadas previamente em $\arcsin(x/100)^{1/2}$. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG), Universidade Federal de Viçosa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de alporquia possibilitou o resgate vegetativo de todos os genótipos estudados, porém somente quando foi utilizado o AIB, anelamento total dos ramos e filmes plásticos transparentes para a proteção dos alporques. Dessa forma, os resultados apresentados referem-se apenas a essa combinação de níveis dos fatores testados.

As frequências de enraizamento dos alporques de urucum variaram em função do genótipo. Os genótipos 5 e 10 apresentaram 100% de

alporques enraizados, não diferindo estatisticamente entretanto, dos genótipos 3 e 9 que apresentaram 80 e 70% de alporques enraizados respectivamente. Estes genótipos foram superiores aos demais quanto ao potencial de enraizamento, os quais apresentaram de 20 a 65% de alporques enraizados (Figura 1). O efeito do genótipo no enraizamento de espécies lenhosas foi também verificado por Wendling e Xavier (2005) no processo de miniestaquia de clones de eucalipto (*Eucalyptus grandis*) e, por Castro e Silveira (2003) no enraizamento de alporques de cultivares de *Prunus*.

O processo rizogênico nos ramos, de todos os genótipos de urucum avaliados neste trabalho, foi dependente da aplicação do AIB, não sendo, dessa forma, observada a formação de raízes na ausência desse fitorregulador. O AIB é uma auxina que apresenta menor fotossensibilidade e maior estabilidade química na planta, tornando-se efetiva na indução radicial quando aplicada exogenamente em ramos de muitas espécies (HARTMANN et al., 2002).

O uso do AIB é prática comum para a indução do enraizamento em estacas e também tem sido utilizado para o enraizamento de alporques de espécies lenhosas. Martins e Antunes (2000) observaram aumento na porcentagem de enraizamento de alporques de jambeiro rosa (*Sizygyum jambos*) de 55%, sem a aplicação de reguladores de crescimento, para 97,5% com a aplicação de 49,2 mM de AIB. Em alporques de ginkgo (*Ginkgo biloba*), Bitencourt et al. (2007) também observaram o efeito positivo do AIB sobre a porcentagem de alporques enraizados. Nessa espécie, aos 70 dias, ocorreu aumento do percentual de alporques enraizados de 20% (testemunha) para 50 e 80% com a aplicação de 7,38 mM e 14,76 mM de AIB respectivamente. O AIB, entretanto, não foi eficiente no enraizamento de alporques de pequi (*Caryocar brasiliense*), quando utilizado nas concentrações de 2,46, 4,92 e 9,84 mM (LEITE et al., 2007).

O processo rizogênico, nos ramos de todos os genótipos, não foi precedido pela formação

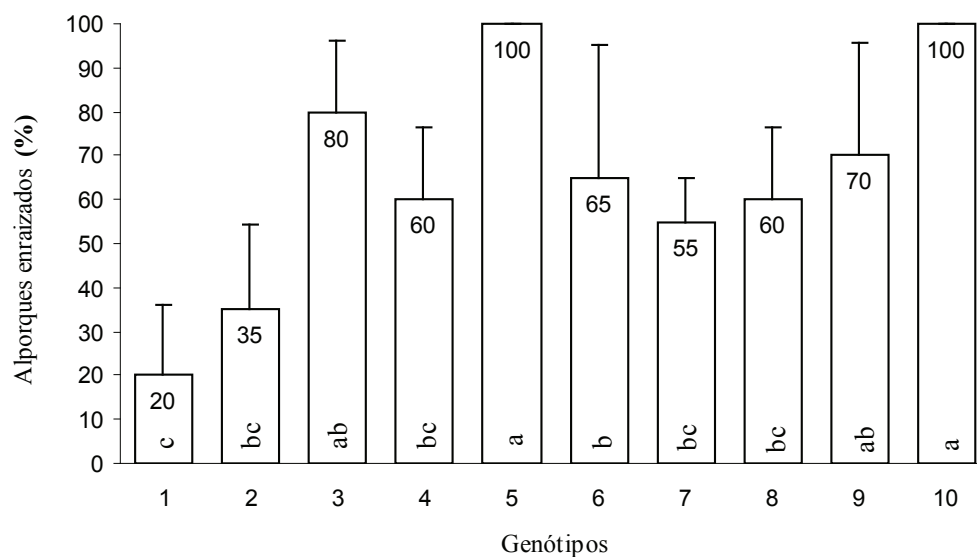


FIGURA 1: Porcentagem de alporques enraizados de dez genótipos de urucum (*Bixa orellana* L.), após 30 dias, sob anelamento total dos ramos, aplicação de 4,92 mM de AIB e proteção dos ramos com filme plástico transparente. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Barras verticais indicam desvios das médias.

FIGURE 1: Percentage of air layering rooting of 10 annatto (*Bixa orellana* L.) genotypes, after 30 days, submitted to complete girdling of the branches, application of 4.92 mM IBA and covering with transparent plastic film. Means followed by the same letter do not differ by Tukey test ($P \leq 0.05$). Vertical bars indicate deviations from the means.

de calos, mesmo quando o AIB foi aplicado. As raízes adventícias tiveram origem endógena, provavelmente partindo da diferenciação de células da região cambial, indicando que em urucum, nas condições testadas, a formação de calos não foi necessária para o enraizamento. O mesmo comportamento, em relação à formação direta de raízes, foi verificado por Pacheco et al. (1998) em alporques de videira (*Vitis rotundifolia*). Porém, a formação de calos foi observada em 100% dos alporques de ginkgo, mesmo no tratamento sem a aplicação de AIB (BITENCOURT et al., 2007).

O anelamento total dos ramos foi essencial para o enraizamento dos alporques de urucum, pois possibilitou a formação de raízes em toda a circunferência dos ramos. Quando o anelamento dos ramos foi realizado de forma parcial, poucos primórdios radiculares foram observados durante o período de avaliação do experimento e, sem desenvolvimento posterior. O anelamento, por meio da retirada da casca, interrompe o transporte via floema, provocando acúmulo de auxinas, cofatores de enraizamento e fotoassimilados, como os carboidratos, na região distal do ramo, fatores esses que, em combinação com a aplicação de auxinas exógenas, como o AIB, são importantes na promoção do enraizamento adventício em alporques (HARTMANN et al., 2002).

Os processos de indução e desenvolvimento radicular nos alporques foram favorecidos pela proteção dos ramos com material impermeável, especialmente o filme plástico transparente. O tecido tencel, por outro lado, por apresentar grande quantidade de poros, permitiu a perda excessiva de umidade do substrato, tornando-o ressecado, fato que não permitiu o desenvolvimento do sistema radicular, provocando a morte do alporque. A utilização de filmes plásticos de cor preta, apesar de propiciarem a condição de escuro na região de enraizamento, ideal para o desenvolvimento do sistema radicular, elevou a temperatura do substrato, não permitindo o desenvolvimento radicular, inviabilizando, dessa forma, a sobrevivência dos alporques. Plásticos transparentes para a proteção dos ramos têm sido utilizados com sucesso na alporquia de várias espécies lenhosas (CASTRO e SILVEIRA, 2003; LEITE et al., 2007; BITENCOURT et al., 2007).

Como forma de propagação vegetativa, o enraizamento de alporques está sujeito a fatores que também interferem no enraizamento de estacas, embora a condição do ramo a ser enraizado deva estar ligado à planta, com fornecimento de água e

nutrientes via xilema e, de compostos sintetizados nas folhas via floema, possa favorecer o processo rizogênico (HARTMANN et al. 2002). Essa técnica tem proporcionado bons resultados para a propagação de espécies lenhosas como o umbuzeiro (*Spondias tuberosa*) e a gravioleira (*Annona muricata*) (LEDERMAN et al., 1991), pessegueiro (*Prunus persica*) (CASTRO e SILVEIRA, 2003) e, pequiizeiro (*Caryocar brasiliense*) (LEITE et al., 2007).

A velocidade de enraizamento dos alporques foi semelhante entre os genótipos. Após o processo de anelamento, aplicação do AIB e formação do alporque, os primeiros sinais da rizogênese tornaram-se visíveis aos 10 dias partindo do intumescimento da casca, na região distal do ramo e, a emergência dos primórdios radiculares (Figura 2A). Raízes de coloração branca, com diâmetros e comprimentos variados, tornaram-se evidentes aos 20 dias (Figura 2B). Os alporques, aos 30 dias, apresentaram sistema radicular bastante desenvolvido (Figura 2C) com raízes longas bem formadas e com desenvolvimento geotrópico positivo. Aos 40 dias, os alporques enraizados puderam ser destacados da planta matriz (Figura 2D), e plantados em vasos (Figura 2E).

A sobrevivência dos alporques enraizados, obtidos partindo do anelamento total dos ramos, tratamento com 4,92 mM de AIB e envolvimento com filme plástico transparente, após 30 dias do plantio e transferência para casa de vegetação, foi de 100% para todos os genótipos.

Em casa de vegetação, sob controle fitossanitário e nutricional, os alporques dos dez genótipos avaliados desenvolveram brotos partindo de gemas caulinares (Figura 2E). O manejo dessas plantas possibilita mantê-las como cepas fornecedoras de propágulos vegetativos, tais como segmentos nodais, que poderão ser utilizados como explantes no cultivo *in vitro* do urucum ou como miniestacas (Figura 2F), constituindo um banco de genótipos que poderá ser utilizado para futuros estudos.

CONCLUSÕES

O resgate vegetativo de genótipos de *Bixa orellana* L. e a produção de propágulos vegetativos podem ser realizados com sucesso através da alporquia empregando o anelamento total dos ramos, tratamento com AIB a 4,92 mM e proteção dos ramos com filme plástico transparente.

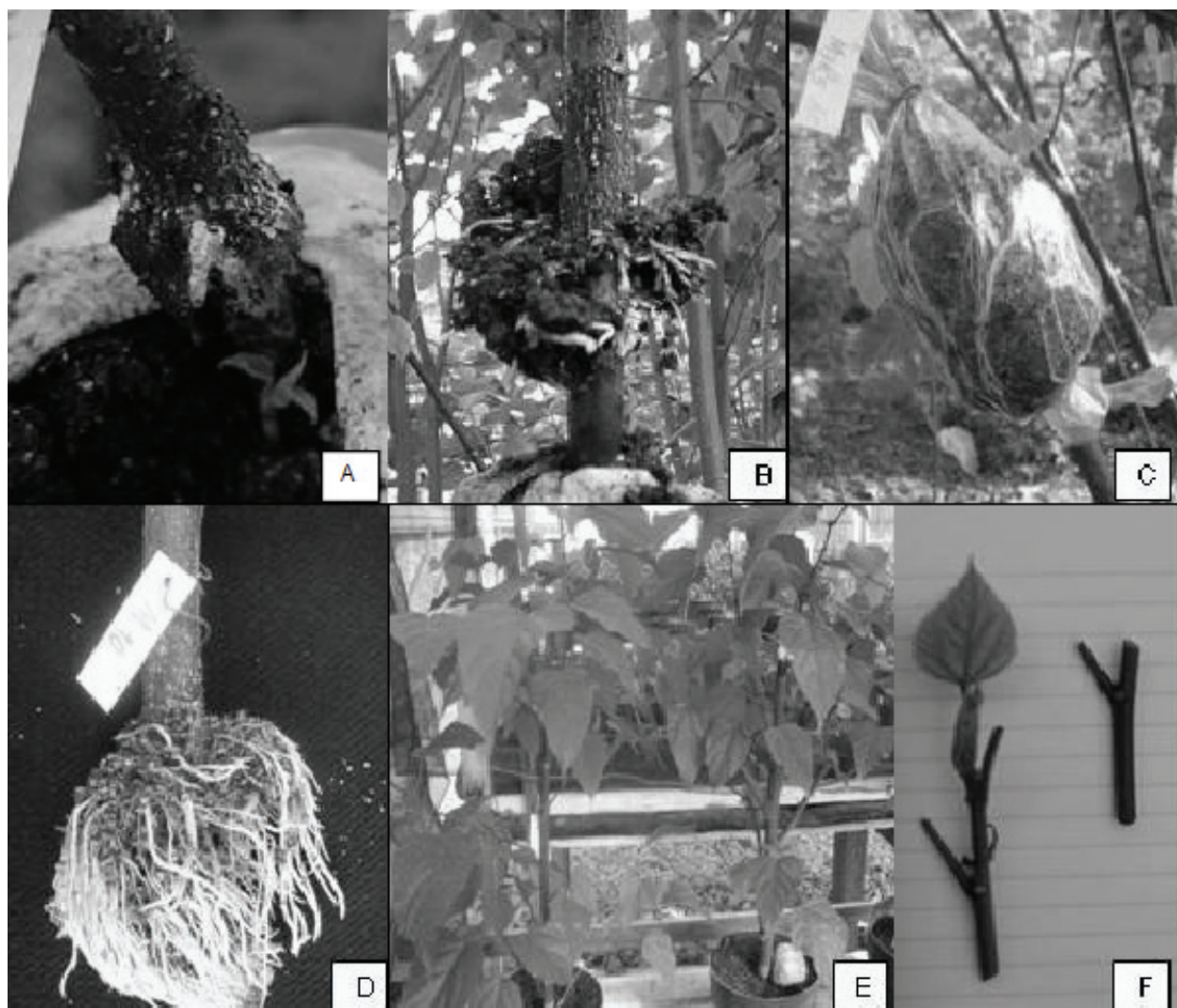


FIGURA 2: Etapas do enraizamento em ramos com aplicação de AIB a 4,92 mM e cobertura com filme plástico transparente, estabelecimento de alporques e produção de explantes de urucum (*Bixa orellana* L). A – Intumescimento na porção distal do ramo anelado, aos 10 dias; B – Rizogênese aos 20 dias; C – Aspecto do alporque aos 30 dias; D – Alporque enraizado, aos 40 dias, destacado da planta-matriz; E – Alporques fontes de explantes, em casa de vegetação; F – Miniestaca (esquerda) e segmento nodal (direita) de brotos de alporques.

FIGURE 2: Steps of rooting branches with application of IBA at 4.92 mM and protected with transparent plastic film, layer establishment and explant production of annatto (*Bixa orellana* L). A – Swelling at the upper girdled stem area, after 10 days; B – Rhizogenic response after 20 days; C – Aspect of air layering after 30 days; D – Prolific rooting of a detached layer, after 40 days; E – Potted air layering-derived stock plants as source of explants, growth in greenhouse; F – Detail of a minicutting (left) and a nodal segment (right) derived from the layers.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A. C. et al. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 422 p.
- BITENCOURT, J.; MAYER, J. L. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C. Propagação vegetativa de *Ginkgo biloba* por alporquia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 2, p. 71-74, 2007.
- BONGA, J. M., VONADERKAS, P. *In vitro culture of trees*. Amserdam: Kluwer Academic Publishers, 1992. 236 p.
- BOUVIER, F.; DOGBO, O.; CÂMARA, B. Biosynthesis of the food and cosmetic plant pigment bixin (annatto). **Science**, New York, v. 300, n. 5628, p. 2089-2091, June 2003.
- BRUCKNER, C. H.; KHOURI, S. S.; MELGAÇO, A. V. Propagação do urucueiro (*Bixa orellana* L.) por meio de cinco modalidades de enxertia. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 32, n. 38, p. 340-344, 1991.
- CARVALHO, J. F. R. P.; CARVALHO, C. R.; OTONI, W. C. Regeneração *in vitro* de urucum (*Bixa orellana* L.) a partir de diferentes tipos de explantes. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 887-895, Nov./dez. 2005.
- CASTRO, L. A. S.; SILVEIRA, C. A. P. Propagação vegetativa do pessegueiro por alporquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 368-370, ago. 2003.
- COLLINS, P.; HUGHES, S. Natural colours – a question of stability. In COLLINS, G.B., SHEPHERD, R.H. (Eds.). **Prospectives in natural food symposium**. London: Overseal Food, 1991. p. 1-10.
- D'SOUZA, M. C.; SHARON, M. *In vitro* clonal propagation of annatto (*Bixa orellana* L.). **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, New York, v. 37, n.2, p. 168-172, Mar./Apr. 2001.
- HARTMANN, H. T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 7th ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880 p.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: (<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pevs>) > Acesso em: 18 de setembro de 2008.
- JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Nacional, 2002. 777 p.
- LAURO, G. J. A primer on natural colors. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 36, n. 11, p. 949-953, Nov. 1991.
- LEDERMAN, I. E. et al. Propagação vegetativa do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) e da graviola (*Annona muricata* L.) através da alporquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 1, p. 55-58, 1991.
- LEITE, G. L. D. et al. Efeito do AIB sobre a qualidade e fitossanidade dos alporques de influência da *Caryocar brasiliense* Camb (Caryocaraceae). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 315-320, 2007.
- LIMA, L. C. F. Mercado Sul-Americano do urucu. In: SEMINÁRIO DE CORANTES NATURAIS PARA ALIMENTOS, 2; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE URUCUM, 1, 1991, Campinas. **Anais ... ITAL: Campinas**, 1991. p. 199-205.
- MANTOVANI, N. C. **Propagação vegetativa e cultivo in vitro de *Bixa orellana* L. e *Ginkgo biloba* L.** 2007. 135 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- MARTINS, A. B. G.; ANTUNES, E. L. Propagação do jameiro rosa (*Sizygyum jambos* L. Alston.) pelo processo de alporquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 205-207, 2000.
- NIEDZ, R. P.; BAUSHER, E. G. Control of *in vitro* contamination of explants from greenhouse- and field-grown trees. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, New York, v. 38, p. 468-471, Sept./Oct., 2002.
- PACHECOA, C.; CASTRO, P. R. C.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Aspectos anatômicos do enraizamento da videira muscadínia (*Vitis rotundifolia* Michx.) através de alporquia. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 210-217, Mai./Ago. 1998.
- PAIVA NETO, V. B. et al. Somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of annatto (*Bixa orellana* L.). **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, New York, v. 39, n. 6, p. 629-634, Nov./Dec. 2003a.
- PAIVA NETO, V. B.; MOTA, T. R.; OTONI, W. C. Direct organogenesis from hypocotyl-derived explants of annatto (*Bixa orellana* L.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 75, n. 2, p. 159-167, Nov. 2003b.
- PAIVA NETO, V. B.; CARVALHO, C. R.; OTONI, W. C. Mannose - a potential selection system for genetic transformation of annatto (*Bixa orellana* L.). **Biologia Plantarum**, Prague, v. 47, n. 3, p. 441-444, 2003c.
- PARIMALAN, R.; GIRIDHAR, P.; RAVISHANKAR, G. A. Mass multiplication of *Bixa orellana* L. through tissue culture for commercial propagation. **Industrial Crops and Products**, v.

- 28, n. 2, p. 122-127, Sept. 2008.
- PINHEIRO, A. L.; ALMEIDA, E. C. de. Avaliação de um híbrido artificial obtido entre duas variedades de urucum (*Bixa orellana* L.) em Viçosa – Minas Gerais. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, Vitória da Conquista, v. 1, n. 1, p. 31-35, ago./set. 1992.
- REBOUÇAS, T. N. H.; SÃO JOSÉ, A. R. **A cultura do urucum: práticas de cultivo e comercialização**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB/SBCN, 1996. 42 p.
- SÃO JOSÉ, A. R. et al. Estudo da propagação vegetativa e sexual do urucum (*Bixa orellana* L.) Experimento I. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, Vitória da Conquista, v. 1, n. 1, p. 20-24, ago./set. 1992.
- SÃO JOSÉ, A. R. et al. Cultivo del achiote (*Bixa orellana* L.) en Brasil. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, Vitória da Conquista, v. 3, p. 113-119, 1999.
- SHA VALLI KHAN, P. S.; PRAKASH, E.; RAO, K. R. Callus induction and plantlet regeneration in *Bixa orellana* L., an annatto-yielding tree. **In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, New York, v. 38, n.2, p. 186-190, Mar. 2002.
- THORPE, T. A.; HARRY, I. S.; KUMAR, P. P. Application of micropropagation to forestry. In: DEBERGH, P. C., ZIMMERMAN, R. H. (Eds.). **Micropropagation: Technology and application**. Dordrecht: Kluwer, 1991. p. 311-336.
- XAVIER, A., COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 20, n. 1, p. 9-16, jan./fev. 1999.
- WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 8, n. 1, p. 187-194, jan./dez. 2001.
- _____. Influência da miniestaquia seriada no vigor radicular de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 5, p. 681-689, set./out. 2005.