



ARTIGO ORIGINAL

OPEN ACCESS

**CONTROLE DA OXIDAÇÃO FENÓLICA NO CULTIVO IN VITRO DE *ASTRONIUM URUNDEUVA* (M. ALLEMÃO) ENGL.**

*CONTROL OF PHENOLIC OXIDATION IN THE IN VITRO CULTURE OF *Astronium urundeuva* (M. Allemão) Engl.*

*CONTROL DE LA OXIDACIÓN FENÓLICA EN EL CULTIVO IN VITRO DE *Astronium urundeuva* (M. Allemão) Engl.Engl.*

**Leonardo Máximo Silva<sup>1\*</sup>, Leandro Silva de Oliveira<sup>2</sup>, Ariane da Silva Nogueira<sup>3</sup>, Nayara dos Santos de Souza<sup>4</sup>, Nicole Vieira Jorge<sup>5</sup>, Glenda Araújo de Souza Honorato<sup>6</sup> & Leovandes Soares da Silva<sup>7</sup>**

<sup>1 2 3 4 5 6 7</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG

<sup>1</sup>leomaxyl4@hotmail.com <sup>2</sup>leandroengflor@gmail.com <sup>3</sup>ariane.silva.nogueira@hotmail.com <sup>4</sup>souzass.nayara@gmail.com <sup>5</sup>nicolevieira.engflorestal@hotmail.com <sup>6</sup>glenda1\_ash@hotmail.com <sup>7</sup>leosoares.ef@gmail.com

**ARTIGO INFO.**

**Recebido: 03.04.2023**

**Aprovado: 06.07.2023**

**Disponibilizado: 28.07.2023**

**PALAVRAS-CHAVES** Anacardiaceae; Aroeira-do-sertão; Brotações juvenis; Antioxidante.

**KEYWORDS:** Anacardiaceae; Aroeira-do-sertão; Juvenile shoots; Antioxidant.

**PALABRAS CLAVE:** Anacardiaceae; Aroeira-do-sertão; Brotes juveniles; Antioxidante.

\* Autor Correspondente: Silva, L. M.

**RESUMO**

*Astronium urundeuva* (aroeira-do-sertão) é uma das espécies nativas com potenciais silviculturais para exploração madeireira. No cultivo in vitro da espécie tem-se observado dificuldades como a oxidação fenólica, principalmente a partir de explantes coletados de árvores matrizes adultas. Dessa forma, a utilização de explantes originários de sementes é uma alternativa para a propagação da espécie, afim de minimizar a oxidação. Neste contexto, o objetivo do estudo foi avaliar a ação de ácido ascórbico, carvão ativado e polivinilpirrolidona no controle da oxidação fenólica no cultivo in vitro de *A. urundeuva*. Brotações apicais obtidas a partir de plântulas de *A. urundeuva* germinadas in vitro foram utilizadas como explantes. Estes foram subcultivados em meio de cultura MS50%, acrescido dos antioxidantes ácido ascórbico (0,2; 0,4; 0,6 e 0,8 mg.L<sup>-1</sup>) carvão ativado (3,0; 6,0; 9,0 e 12 g.L<sup>-1</sup>) e polivinilpirrolidona (0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g.L<sup>-1</sup>). Após o cultivo in vitro, o ácido ascórbico, carvão ativado e PVP nas concentrações de 0,2 mg.L<sup>-1</sup>, 12 g.L<sup>-1</sup> e 1,5 g.L<sup>-1</sup> respectivamente, foram efetivos no controle de oxidação fenólica. O carvão ativado nesta concentração controlou totalmente a oxidação fenólica das plântulas. Os resultados deste trabalho demonstram a viabilidade dos antioxidantes na minimização dos efeitos da oxidação fenólica, especialmente com o uso do carvão ativado e abre perspectivas para maiores estudos de micropropagação de *A. urundeuva*, tanto de materiais genéticos juvenis quanto adultos, contribuindo para a sua conservação e auxiliando em trabalhos de melhoramento genético da espécie.

**ABSTRACT**

*Astronium urundeuva* (Aroeira-do-sertão) is a Brazilian native species with silvicultural potential for logging. In the in vitro cultivation of the species, difficulties such as phenolic oxidation have been observed, mainly from explants collected from adult matrix trees. Thus, the explants originating from seeds are an alternative for the propagation of the species to minimize

oxidation. In this context, the study aimed to evaluate the action of ascorbic acid, activated charcoal, and polyvinylpyrrolidone in controlling phenolic oxidation in the in vitro culture of *A. urundeuva*. Apical shoots obtained from seedlings of *A. urundeuva* germinated in vitro were used as explants. They were cultivated in MS50% culture medium plus ascorbic acid (0.2; 0.4; 0.6, and 0.8 mg.L<sup>-1</sup>) and activated charcoal (3.0; 6.0; 9.0, and 12 g.L<sup>-1</sup>) and polyvinylpyrrolidone (0.5; 1.0; 1.5 and 2.0 g.L<sup>-1</sup>). After in vitro culture, ascorbic acid, activated charcoal, and PVP at concentrations of 0.2 mg.L<sup>-1</sup>, 12 g.L<sup>-1</sup> and 1.5 g.L<sup>-1</sup>, respectively, were effective in controlling phenolic oxidation. At this concentration, activated charcoal completely regulated the phenolic oxidation of the seedlings. The results of this work demonstrate the feasibility of antioxidants in minimizing the effects of phenolic oxidation, especially with the use of activated charcoal, and open perspectives for further studies of micropropagation of *A. urundeuva*, both in juvenile and adult genetic materials, contributing to its conservation and assisting in the genetic improvement of the species.

**RESUMEN**

*Astronium urundeuva* (aroeira-do-sertão) es una de las especies nativas con potencial silvícola para la tala. Se han observado dificultades en el cultivo in vitro de la especie, como la oxidación fenólica, principalmente a partir de explantes recolectados de árboles madre adultos. Así, el uso de explantes provenientes de semillas es una alternativa para la propagación de la especie, con el fin de minimizar la oxidación. En este contexto, el objetivo del estudio fue evaluar la acción del ácido ascórbico, carbón activado y polivinilpirrolidona en el control de la oxidación fenólica en el cultivo in vitro de *A. urundeuva*. Como explantes se utilizaron brotes apicales obtenidos de plántulas de *A. urundeuva* germinadas in vitro. Estos fueron subcultivados en medio de cultivo MS50%, más los antioxidantes ácido ascórbico (0,2; 0,4; 0,6 y 0,8 mg.L<sup>-1</sup>), carbón activado (3,0; 6,0; 9,0 y 12 g.L<sup>-1</sup>) y polivinilpirrolidona (0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 g.L<sup>-1</sup>). Después de cultivo in vitro, el ácido ascórbico, el carbón activado y la PVP en concentraciones de 0,2 mg.L<sup>-1</sup>, 12 g.L<sup>-1</sup> y 1,5 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente, fueron efectivos en el control de la oxidación fenólica. El carbón activado a esta concentración controló completamente la oxidación fenólica de las plántulas. Los resultados de este trabajo demuestran la viabilidad de los antioxidantes para minimizar los efectos de la oxidación fenólica, especialmente con el uso de carbón activado, y abren perspectivas para futuros estudios de micropropagación de *A. urundeuva*, tanto a partir de materiales genéticos juveniles como adultos, contribuyendo a su conservación y asistencia en trabajos de mejoramiento genético de la especie.



## 1. INTRODUÇÃO

A “*Aroeira-do-Sertão*” (*Astronium urundeuva* [M. Allemão] Engl.) é uma espécie arbórea nativa brasileira da família *Anacardiaceae*, com distribuição geográfica nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sul, sendo encontrada nos domínios fitogeográficos Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Silva-Luz & Pirani, 2014). A *aroeira* é economicamente importante devido à sua madeira de grande valor agregado, propriedades farmacológicas e também mel obtido de sua floração (Vieira et al., 2016; Demier, 2018). Apesar de seus múltiplos usos e do interesse econômico em torno da espécie, a exploração ainda ocorre de forma exclusivamente extrativista, o que resultou em severa redução das populações naturais (Monteiro et al., 2006; Pacheco et al., 2006). Como resultado, *A. unrudeuva* foi incluída em edições anteriores da lista oficial brasileira de espécies ameaçadas de extinção (Brasil, 2008). Assim, estudos sobre sua disseminação são necessários para garantir a conservação a longo prazo e estratégias de exploração sustentável dessa espécie.

A produção comercial de mudas de *A. unrudeuva* é realizada exclusivamente por via seminífera, mas o uso de técnicas de propagação assexuada é uma ferramenta importante para a manutenção dos genótipos desejados e obtenção de plantas sadias (Oliveira et al., 2013). Nesse contexto, a micropropagação é uma ferramenta potencial que auxiliaria e/ou substituiria os métodos de propagação já utilizados, uma vez que o cultivo *in vitro* permite a produção de mudas (Hung et al., 2016; Isah, 2016). O sucesso da micropropagação depende de fatores inerentes ao tecido vegetal (Borges et al., 2012; Schuch et al., 2008), bem como do meio de cultura, reguladores de crescimento e condições do microambiente *in vitro* (Bassan et al., 2006; Golle et al., 2012; Jardim et al., 2010). Portanto, para o desenvolvimento de protocolos de micropropagação para uma determinada espécie, é necessário primeiro estabelecer culturas *in vitro*.

A introdução de cultivos *in vitro* costuma ser uma etapa desafiadora na micropropagação, principalmente para espécies nativas e lenhosas que apresentam oxidação fenólica e contaminação fúngica e/ou bacteriana (Alfenas et al., 2009; Yoshiko & Teixeira, 2001). Os compostos fenólicos são substâncias que fazem parte do metabolismo secundário da planta e geralmente servem para proteger os tecidos vegetais contra injúrias, insetos e ataque de animais (Vizzotto et al., 2010). Por definição química, os compostos fenólicos são substâncias que possuem pelo menos um anel aromático no qual pelo menos um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila. Esses compostos são sintetizados a partir das rotas metabólicas do ácido quiquímico e do ácido mevalônico, sendo esse último menos significativo (Vizzotto et al., 2010). No cultivo *in vitro*, o dano causado às células durante a excisão dos propágulos vegetativos estimula o processo de oxidação de substâncias fenólicas resultando em escurecimento do meio de cultura e morte do explante (Ahmad et al., 2013; Cassells & Curry, 2010). Alguns métodos para reduzir a oxidação fenólica podem ser utilizados, incluindo o uso de substâncias antioxidantes, redução de danos mecânicos e químicos, lavagem de propágulos vegetativos em água corrente, uso de meios básicos mais diluídos, remoção de substâncias fenólicas, entre outros (Xavier et al., 2009).



Os antioxidantes atuam na inativação de radicais livres, na complexação de íons metabólicos ou na redução de peróxidos para produtos incapazes de formar radicais livres com potencial oxidante (Araújo, 1985). Na micropropagação, entre as substâncias adicionadas ao meio de cultura com função antioxidante temos o ácido ascórbico, a polivinilpirrolidona (PVP) e o carvão ativo (Lal et al., 2021). Essas substâncias podem atuar inibindo a síntese ou atividade de enzimas ligadas à oxidação de polifenóis ou atuando como adsorventes dessas substâncias. Diante do exposto, este trabalho visa determinar as melhores concentrações de carvão ativado, ácido ascórbico e PVP para o controle da oxidação fenólica na fase de estabelecimento *in vitro* de *A. unrudeuva*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. MATERIAL VEGETAL

O experimento foi conduzido no Laboratório de Melhoramento Florestal (Laboratório de Melhoramento Florestal), localizado no Centro de Pesquisa em Ciências Agrárias - CPCA do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais - ICA/UFMG, no município de Montes Claros, Minas Gerais (latitude 16°40'59,7" S, longitude 43°50'21,9" W, altitude 680 m). A espécie foi identificada por meio de comparação com amostra de planta caída no "Herbário Norte Mineiro - MCCA", registro número: MCCA 1517.

### 2.2. DESINFESTAÇÃO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES *IN VITRO*

Os diásporos de *A. unrudeuva* coletados no mês de setembro, de 21 matrizes localizadas em um fragmento de cerrado localizado no município de Montes Claros/MG, foram encaminhados ao laboratório para processamento manual, que consistiu na retirada dos cálices dos diásporos e na seleção daquelas que não apresentavam visualmente frutos com sementes vazias (ausência de tecidos), danos físicos e/ou causados por insetos. Na assepsia, os diásporos selecionados foram colocados em água corrente por 10 minutos e em seguida imersos em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 2,0 - 2,5% (v/v) de cloro ativo por 15 minutos. Ao final da assepsia, foram enxaguados três vezes com água deionizada e autoclavada e inoculados verticalmente em tubos de ensaio (2 x 10 cm), contendo 5,0 ml do meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) com metade da concentração de sais (MS 50%), suplementados com sacarose (30 g L<sup>-1</sup>) e ágar (6 g L<sup>-1</sup>). O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 e sua esterilização foi realizada quimicamente com o biocida polybac 7DC (2 ml L<sup>-1</sup>). Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob controle de fotoperíodo de 16/8 horas (claro e escuro) e temperatura de 27 ± 2°C.

### 2.3. CONTROLE DE OXIDAÇÃO FENÓLICA

Mudas com 25 dias de idade, contadas a partir da emergência da radícula, foram utilizadas como fonte de explantes. A raiz foi extirpada das mudas e apenas a parte aérea foi utilizada como explante e inoculada em tubos de ensaio (2 x 10 cm), contendo 5,0 ml do meio de cultura MS com metade da concentração de sal, suplementado com sacarose (30 g L<sup>-1</sup>) e ágar (6 g L<sup>-1</sup>). Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob controle de fotoperíodo de 16/8 horas (claro e escuro) e temperatura de 27 ± 2°C.



Diferentes concentrações dos três agentes antioxidantes foram adicionadas separadamente ao meio de cultura básico de multiplicação *in vitro* de *A. unrudeuva* (Tabela 1).

**Tabela 1.** Descrição das concentrações dos antioxidantes ácido ascórbico (AA), carvão ativado (AC) e polivinilpirrolileno (PVP) visando o controle da oxidação fenólica na multiplicação *in vitro* de *A. unrudeuva*.

Tratamento	Ácido Ascórbico (mg/L)	Carvão Ativado (g/L)	Polivinilpirrolida (g/L)
1	0.2	-	-
2	0.4	-	-
3	0.6	-	-
4	0.8	-	-
5	-	3.0	-
6	-	6.0	-
7	-	9.0	-
8	-	12.0	-
9	-	-	0.5
10	-	-	1.0
11	-	-	1.5
12	-	-	2.0

Fonte: Autores (2022).

Após 30 dias do início do experimento, avaliou-se o número de brotos e a sobrevivência dos explantes. Na avaliação, foram considerados explantes sobreviventes aqueles sem quaisquer distúrbios fisiológicos e necrose sintomática da parte aérea.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, contendo 12 tratamentos, cada um composto por 16 repetições. Os dados medidos foram analisados quanto à normalidade e homogeneidade ( $P > 0,05$ ), respectivamente, pelo teste de Shapiro-Wilk e Bartlett. Em seguida, os dados foram submetidos a uma análise de regressão polinomial ( $P < 0,05$ ). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote ExpDes.pt do *software* estatístico RStudio®, versão 3.5.3.

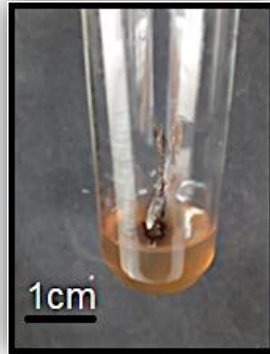
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A micropropagação de espécies florestais a partir de material maduro, coletado de árvores matrizes selecionadas é um dos meios de propagação de genótipos superiores para um determinado fim, principalmente aqueles derivados de programas de melhoramento (Silva et al., 2021). No entanto, para as espécies florestais nativas há uma grande carência de estudos sobre a propagação *in vitro* de genótipos adultos.

Portanto, pesquisas dentro desse tema são essenciais para superar os obstáculos à expansão da silvicultura nativa no Brasil. Inicialmente, estudos preliminares foram conduzidos com brotações epicórmicas de matrizes adultas de *A. unrudeuva*. No cultivo *in vitro* dessas brotações, houve intensa oxidação do meio e dos explantes em meio MS 50%, com sua morte após 2 dias de inoculação (Figura 1). Nesse contexto, devido à escassez de informações na literatura e aos obstáculos na micropropagação de explantes de material adulto, decidiu-se investigar o efeito de antioxidantes na multiplicação *in vitro* de explantes seminais de *A. unrudeuva*.



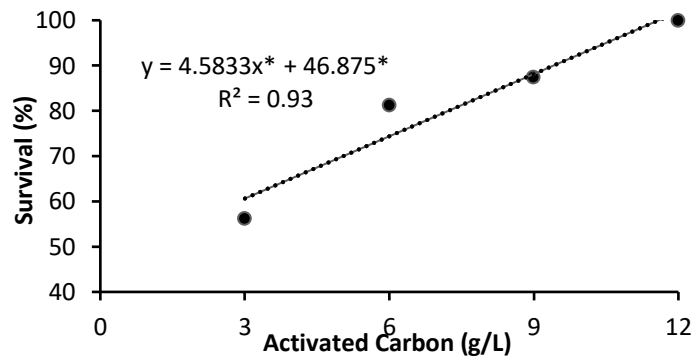
**Figura 1.** Oxidação fenólica de brotos epiórmicos de *A. unrundeuva* após 2 dias de inoculação em meio de cultura MS 50%, suplementado com antioxidantes. Barra = 1 cm.



Fonte: Autores (2022).

O uso de carvão ativado como agente antioxidante na multiplicação *in vitro* de *Astronium unrundeuva* foi eficiente no controle da oxidação fenólica. Houve uma redução drástica na oxidação fenólica com o aumento das concentrações de carvão ativado utilizadas, obtendo-se 100% de sobrevivência dos explantes na concentração de  $12 \text{ g L}^{-1}$  (Figura 2). Além disso, o fato dos explantes serem de origem seminal pode ter contribuído para a minimização da oxidação fenólica. A rota metabólica do chiquimato responsável pela produção de fenóis nas plantas, provavelmente é ativada com maior intensidade em tecidos de árvores maduras (Oliveira et al., 2013). Nos tecidos juvenis as células ainda não passaram por um processo de diferenciação tão pronunciado, com expressão gênica responsável pela ativação das rotas metabólicas de produção de fenóis e, conseqüentemente, apresentarão menores problemas quanto à oxidação fenólica.

**Figura 2.** Porcentagem de explantes sobreviventes (%) após 30 dias de cultivo *in vitro* em meio de cultura MS 50%, suplementado com diferentes concentrações de carvão ativado. \*significativo ao nível de 5%.



Fonte: Autores (2022).

A parte aérea de *A. unrundeuva* desenvolvida no meio de cultivo suplementado com carvão ativado apresentou vigor vegetativo adequado, sem anormalidades morfofisiológicas aparentes (Figura 3), resultado semelhante ao encontrado para *Swietenia macrophylla* King (Lameira et al., 2001), *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. (Meneguzzi et al., 2020) e *Khaya ivorensis* A. Chev. (Azevedo, 2018). Por outro lado, apesar da eficiência do carvão ativado no controle da oxidação, altas concentrações dele no meio de cultura podem ser um empecilho.



Esses resultados advêm do fato do carvão ativado atuar como adsorvente no meio de cultura, fazendo com que tanto substâncias fenólicas quanto componentes do meio sejam adsorvidos, como nutrientes e reguladores (Lencina et al., 2018). Como resultado, o cultivo *in vitro* pode causar deficiências nutricionais nos explantes (Meneghetti, 2020). Recomenda-se, então, subcultivar a parte aérea para um novo meio de cultura no tempo máximo de 30 dias, a fim de minimizar possíveis efeitos na parte aérea com o uso de altas concentrações de carvão ativado.

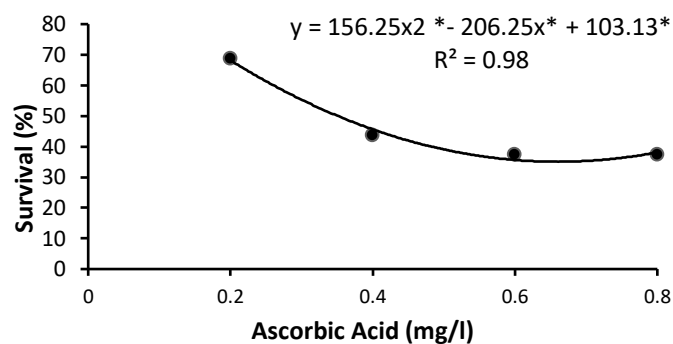
**Figura 3.** Aspecto visual da brotação de *A. unrudeuva* apresentando adequado vigor fisiológico no meio de cultivo MS meia força, suplementado com 12 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado, após 30 dias de cultivo *in vitro*. Barra = 1 cm.



Fonte: Autores (2022).

O ácido ascórbico atua no controle da oxidação fenólica pela inativação dos radicais de oxigênio. Esses radicais são liberados pelos explantes e potencializados na presença de luz. Ao cortar o segmento, o ácido ascórbico atua na inibição dos radicais liberados na lesão causada (Verde et al., 2021). Na multiplicação *in vitro* de *A. unrudeuva* houve diminuição da eficácia do controle da oxidação fenólica da parte aérea, à medida que se aumentou a concentração de ácido ascórbico (Figura 4).

**Figura 4.** Porcentagem de explantes (%) sobreviventes após 30 dias de cultivo *in vitro* em meio de cultura MS 50%, suplementado com diferentes concentrações de ácido ascórbico. \*significativo ao nível de 5%.



Fonte: Autores (2022).

O ácido ascórbico no meio de cultivo é absorvido pela planta e atua diretamente nas rotas metabólicas de síntese de fenóis (Taiz & Zeiger, 2004). O resultado obtido para a multiplicação



**Citação (APA):** Silva, L. M., Oliveira, L. S., de, Nogueira, A. da S., Souza, N. dos S., de, Jorge, N. V., Honorato, G. A. de S., & Silva, L. S., da. (2023). Control of phenolic oxidation in the in vitro culture of *Astronium urundeuva* (M. Allemão) Engl. *Brazilian Journal of Production Engineering*, 9(3), 92-100.

*in vitro* de *A. unrudeuva* com o uso do ácido ascórbico pode estar ligado ao fato de que esse não é eficaz como agente antioxidante dos fenóis liberados pela parte aérea. Também é notável que a ineficácia do ácido ascórbico, altas concentrações também não foram eficientes em *Malus domestica* Borkh (Erig & Schuch, 2003). A *Astronium urundeuva* pode ser sensível ao ácido ascórbico e as concentrações utilizadas podem ter ultrapassado o limite aceitável da espécie, causando a morte dos brotos. No entanto, os brotos sobreviventes na concentração de 0,2 mg/L apresentaram bom vigor fisiológico (Figura 5). Além disso, é importante ressaltar que os brotos são de origem seminal e, portanto, apresentam variabilidade genética, proporcionando diferentes respostas ao antioxidante e, conseqüentemente, à sua sobrevivência.

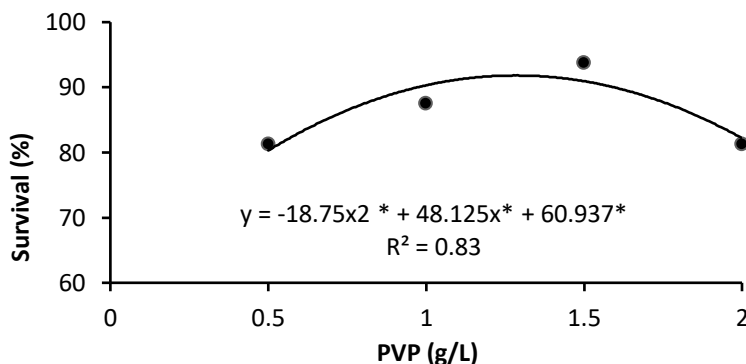
**Figura 5.** Aspecto visual da brotação de *A. unrudeuva* com base no vigor fisiológico adequado no meio de cultivo MS meia força, suplementado com 0,2 g L<sup>-1</sup> de ácido ascórbico, após 30 dias de cultivo *in vitro*. Barra = 1 cm.



Fonte: Autores (2022).

A PVP inibe a liberação de compostos fenólicos no meio de cultura, atuando nos tecidos em contato com ele (Cyd & Teixeira, 2014). A oxidação fenólica da parte aérea de *A. unrudeuva* foi reduzida à medida que as concentrações de PVP aumentaram para a concentração de 1,5 g/L, a partir da qual houve uma diminuição na sobrevivência (Figura 6). A redução da sobrevivência da parte aérea de *A. unrudeuva* com PVP em altas dosagens pode estar relacionada à redução da absorção de nutrientes pelos explantes, uma vez que o antioxidante forma uma espécie de camada protetora e isolante dos tecidos em contato com o meio de cultura (Oliveira et al., 2018).

**Figura 6.** Porcentagem de explantes sobreviventes após 30 dias de cultivo *in vitro* em meio MS meia força, suplementado com diferentes concentrações de PVP. \*significativo ao nível de 5%.



Fonte: Autores (2022).



**Citação (APA):** Silva, L. M., Oliveira, L. S., de, Nogueira, A. da S., Souza, N. dos S., de, Jorge, N. V., Honorato, G. A. de S., & Silva, L. S., da. (2023). Control of phenolic oxidation in the in vitro culture of *Astronium urundeuva* (M. Allemão) Engl. *Brazilian Journal of Production Engineering*, 9(3), 92-100.

Assim, a adição de antioxidantes aos segmentos nodais favoreceu o controle da oxidação fenólica em *Astronium urundeuva* e estabelecer a espécie *in vitro*, proporcionando assim, futuros estudos com as demais etapas da micropropagação.

#### 4. CONCLUSÃO

Os antioxidantes carvão ativado, ácido ascórbico e PVP nas concentrações de 12 g/L, 0,2 mg/L e 1,5 g/L, respectivamente, proporcionaram maior estabelecimento *in vitro* do *Astronium brotos de unrudeuva*.

#### REFERÊNCIAS

- Ahmad, I., Hussain, T., Ashraf, I., Nafees, M., Maryam, R. M., & Iqbal, M. (2013). Lethal effects of secondary metabolites on plant tissue culture. *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 13(4), 539-547. <https://doi.org/10.5829/idosi.aejaes.2013.13.04.1975>
- Alfenas, A. C., Zauza, E. A. V., Mafia, R. G., & De Assis, T. F. (2004). Clonagem e doenças do eucalipto.
- Araújo, J. M. (2009). Química de Alimentos: teoria e prática. atual. ampl. Viçosa: UFV.
- Azevedo, M. L. D. (2018). *Micropropagação e enraizamento de miniestacas de mogno africano (Khaya ivorensis A. Chev)*. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina.
- Bassan, J. S., Reiniger, L. R. S., Rocha, B. H. G., Severo, C. R. P., & Flôres, A. V. (2006). Oxidação fenólica, tipo de explante e meios de cultura no estabelecimento *in vitro* de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.). *Ciência Florestal*, 16, 381-390. <https://doi.org/10.5902/198050981919>
- Borges, S. R., Xavier, A., Oliveira, L. S. D., Lopes, A. P., Otoni, W. C., Takahashi, E. K., & Melo, L. A. D. (2012). Estabelecimento *in vitro* de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. *Ciência Florestal*, 22, 605-616. <https://doi.org/10.5902/198050986626>
- Brasil. Ministério do Meio Ambiente. *Instrução Normativa n.º 006 de 23 de setembro de 2008* Recuperado de [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/MM\\_A\\_IN\\_N\\_6.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/MM_A_IN_N_6.pdf).
- Cassells, A. C. & Curry, R. F. (2001). Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers. *Plant cell, tissue and organ culture*, 64, 145-157. <https://doi.org/10.1023/A:1010692104861>
- Cid, L. P. B., & Teixeira, J. B. (2014). Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. *Cultivo in vitro de plantas*, 3, 163-176.
- Demier, A. D. M. (2018). *Doces matas do Norte de Minas: atores, Instituições e a obtenção do registro de indicação geográfica do mel de aroeira*. Recuperado de <http://hdl.handle.net/1843/NCAP-B58EYN>
- Erig, A. C. & Schuch, M. W. (2003). Tipo de explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento *in vitro* de plantas de macieira (*Malus domestica* Borkh.) cvs. Galaxy, Maxigala e Mastergala. *Revista Brasileira de Agrociência*, 9(3), 221-227
- Golle, D. P., Reiniger, L. R. S., Curti, A. R., & Benítez León, E. A. (2012). Estabelecimento e desenvolvimento *in vitro* de *Eugenia involucrata* DC.: influência do tipo de explante e do meio nutritivo. *Ciência Florestal*, 22, 207-214. <https://doi.org/10.5902/198050985092>
- Hung, C. D., Hong, C. H., Kim, S. K., Lee, K. H., Park, J. Y., Nam, M. W., ... & Lee, H. I. (2016). LED light for *in vitro* and ex vitro efficient growth of economically important highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 38, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2164-0>
- Isah, T. (2016). Induction of somatic embryogenesis in woody plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38, 1-22. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2134-6>
- Jardim, L. S., Sampaio, P. D. T. B., Costa, S. D. S., Gonçalves, C. D. Q. B., & Brandão, H. L. M. (2010). Efeito de diferentes reguladores de crescimento na regeneração *in vitro* de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). *Acta Amazonica*, 40, 275-279. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672010000200005>
- Lal, M., Jamwal, M., Bakshi, P., Jasrotia, A. Sharma, N., Sharma, M., Singh, P., Sharma, S., & Kumar, S. (2021). Influence of Antioxidants on *in vitro* Culture Establishment of Clonal Apple Rootstocks. *Biological Forum –an International Journal*, 13(2): 381-385.
- Lameira, O., Lopes, S. D. C., Nogueira, R., & Pinto, J. (2001). *Micropropagação de mogno*.
- Lencina, K. H., Bisognin, D. A., Pimentel, N., Kielse, P., & Mello, U. S. D. (2018). Produtividade de microcepas de grápia (*Apuleia leiocarpa*) mantidas *in vitro*. *Ciência Florestal*, 28, 150-159. <https://doi.org/10.5902/1980509831635>
- Meneghetti, E. C. (2020). *Propagação clonal de Pinus elliottii x Pinus caribaea* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Meneguzzi, A., Konzen, E. R., Navroski, M. C., Camargo, S. S., Pereira, M. D. O., Rufato, L., & Lovatel, Q. C. (2019). Shoot multiplication of two *Sequoia*





**Citação (APA):** Silva, L. M., Oliveira, L. S., de Nogueira, A. da S., Souza, N. dos S., de Jorge, N. V., Honorato, G. A. de S., & Silva, L. S., da. (2023). Control of phenolic oxidation in the in vitro culture of *Astronium urundeuva* (M. Allemão) Engl. *Brazilian Journal of Production Engineering*, 9(3), 92-100.

- sempervirens* genotypes with addition of small concentrations of kinetin. *Pesquisa florestal brasileira*, Colombo, 39, 8. <https://doi.org/0.4336/2019.pfb.39e201701550>
- Monteiro, J. M., Albuquerque, U. P., Lins Neto, E. M., Araújo, E. L., Albuquerque, M. M., & Amorim, E. L. (2006). The effects of seasonal climate changes in the Caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16, 338-344. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000300010>
- Murashige, T. C. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15, 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Pacheco, M. V., Matos, V. P., Ferreira, R. L. C., Feliciano, A. L. P., & Pinto, K. M. S. (2006). Efeito de temperaturas e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.(Anacardiaceae). *Revista Árvore*, 30, 359-367. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622006000300006>
- Oliveira, B., Moreira, R. M., Ramm, A., da Silva, J. B., Maciejewski, P., & Schuch, M. W. (2018). Polivinilpirrolidona no estabelecimento *in vitro* de oliveira 'grappolo 541'. *Revista da Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp*, 1378-1389. Recuperado de <http://revista.urcamp.edu.br/index.php/rcjppg/artic le/view/2912/2021>
- Oliveira, G. D. L. (2013). *Topoquímica e abordagem sobre a estrutura e a conectividade lignina-fenol-parede celular em Euterpe oleracea Mart.(Arecaceae)*.
- Oliveira, L. S., Dias, P. C., & Brondani, G. E. (2013). Micropropagação de espécies florestais brasileiras. *Pesquisa florestal brasileira*, 33(76), 439-453. <https://doi.org/10.4336/2013.pfb.33.76.481>
- RStudio Team (2020). *RStudio: Integrated Development for R*. RStudio, PBC, Boston, MA Recuperado de <http://www.rstudio.com/>
- Schuch, M. W., Damiani, C. R., Silva, L. C. D., & Erig, A. C. (2008). Micropropagação como técnica de rejuvenescimento em mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cultivar Climax. *Ciência e Agrotecnologia*, 32, 814-820. Recuperado de <https://www.scielo.br/j/cagro/a/JTHWNRpMyfBmJ9YtgrGgSyh/?lang=pt>
- Silva-Luz, C. L. & Pirani, J. R. (2010). Anacardiaceae in lista de espécies da flora do Brasil. *Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Recuperado de <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB4394>.
- Silva, K. B., Reiniger, L. R. S., Rabaiolli, S. M. S, da Fonseca Ziegler, A. C., & Stefanel, C. M. (2021). Efeito de diferentes períodos de cultivo na micropropagação de brotações de *Luehea divaricata*. *Pesquisa Florestal Brasileira*, 41.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2004). *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed. 719p. <https://doi.org/110.4336/2021.pfb.41e201901921>
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2004). *Fisiologia vegetal*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed.
- Verde, D. D. S. V., de Souza Mendes, M. I., da Silva Souza, A., Pinto, C. R., Nobre, L. V. C., dos Santos Melo, J. E., & da Silva Ledo, C. A. (2021). Ácido ascórbico e polivinilpirrolidona no cultivo *in vitro* de *Dioscorea* spp. *Research, Society and Development*, 10(9), e10510917812-e10510917812. Recuperado de <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/17812>.
- Vieira, R. F., Camillo, J., Coradin, L., & Vieira, R. F. (2018). *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Centro-Oeste*. Brasília, DF: MMA, 2018. Recuperado de <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1073295>
- Vizzotto, M., Krolow, A. C. R., & Weber, G. E. B. (2010). *Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância*. Recuperado de <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/886074/1/documento316.pdf>
- Xavier, A., Wendling, I. V. A. R., & Silva, R. L. (2009). *Silvicultura clonal: princípios e técnicas Viçosa. MG: Universidade Federal de Viçosa*.
- Xavier, A., Wendling, I., & Silva, R. L. (2013). *Silvicultura clonal: princípios e técnicas*. Viçosa, MG, Ed. UFV, p. 279.
- Yoshiko, A. S., & Teixeira, H. C. D. (2001). Micropropagação de *Celtis* sp: controle da contaminação e oxidação. *Cerne*, 7(2), 117-123. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=74470211>

