

Aspectos anatômicos da cultura
in vitro da *Araucaria angustifolia*. I. Organização
e desenvolvimento dos meristemas axilares
ortotrópicos de segmentos caulinares

Anatomical aspects of *in vitro*
culture of *Araucaria angustifolia*. I. Organization
and development of orthotropic axillary
meristems of stem segments

CECÍLIA IRITANI¹
FLÁVIO ZANETTE²
JOVITA CISLINSKI³

Nas araucariáceas, assim como em outras gimnospermas, não há, como na maioria das angiospermas, uma gema completa na axila de cada folha. As gemas axilares são formadas somente a intervalos regulares, a partir do 3^o-4^o mês após a germinação da semente, em verticilos de 4-6, desenvolvendo-se em ramos e originando a arquitetura tipicamente cônica dos indivíduos jovens das suas espécies. Os ramos têm características plagiotrópicas: simetria bilateral, crescimento e tempo de vida limitados. Utilizados para a propagação vegetativa (enxertia, GURGEL & GURGEL-FILHO, 1967; estaquia, IRITANI, 1981; e micropropagação, BIGOT & ENGELMANN, 1987; MAENE & DEBERGHI, 1987), não reconstituem plantas normais. No entanto, na axila de todas as outras folhas do caule, forma-se

¹ Professor Adjunto do Departamento de Botânica, SCB, Universidade Federal do Paraná -- C. Postal 19.041 -- 81.531-970 Curitiba, PR, Brasil. ² Professor Adjunto do Departamento de Fito-tecnia e Fitossanitarismo, SCA, UFPR e Bolsista do CNPq. ³ Bolsista do CNPq.

um pequeno grupo de células meristemáticas. Liberados da dominância da gema apical, entram em atividade e através de inúmeras divisões celulares, se organizam e se desenvolvem formando gemas. Estas, após alongamento, formam brotos ortotrópicos, que enraizados, reconstituem plantas normais, conservando as características do indivíduo original. Não se conhece os mecanismos através dos quais o meristema apical do caule é capaz de formar os dois tipos de estruturas, os meristemas axilares ortotrópicos e as gemas axilares plagiotrópicas. As condições ambientais, nutricionais e hormonais do cultivo *in vitro* de partes de plantas, podem ser causa de mudanças morfológicas e fisiológicas temporárias ou permanentes. Neste último caso, tem-se as variações somaclonais, que podem ser passadas aos seus derivados. Em muitos casos, essas variações podem ser indesejáveis por acarretarem a formação de *plantlets* sem condições de adaptação e sobrevivência após o transplante para o solo e/ou indivíduos com características alteradas.

O presente trabalho tem por objetivo uma análise prévia da capacidade de organização e desenvolvimento dos meristemas axilares ortotrópicos de segmentos caulinares de mudas de araucária, de 30-60 dias, cultivados em meio básico de Murashigue & Skoog, sem reguladores de crescimento. Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Micropropagação Vegetal, do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias da UFPR.

MATERIAL E MÉTODO

Segmentos de caule de 1,5 a 2 cm, de mudas de 30-60 dias, cultivados em meio básico de Murashigue & Skoog, com a concentração dos nutrientes minerais reduzida à metade (Tabela 1), foram coletados a intervalos de 3 dias, num período total de 15 dias. Para cada coleta foram consideradas 8-10 amostras. Após a lavagem dos segmentos em água corrente, para a retirada dos resíduos do meio gelosado, os mesmos foram fixados em FAA (formol, ácido acético e álcool etílico absoluto a 50%, nas proporções de 5:5:90), em frascos separados e devidamente etiquetados. Após a fixação mínima de 24-48 horas, todos os segmentos foram submetidos ao seguinte roteiro:

1 — redução de cada amostra a 3-4 segmentos longitudinais; desidratação em bateria alcoólica 50-100%, por 24 horas em cada solução; passagem pelas soluções álcool etílico absoluto e álcool butílico terciário absoluto, nas proporções 3:1, 1:1, 1:3 e álcool butílico puro (duas trocas);

2 — os frascos com os segmentos neste último composto, à temperatura ambiente, foram acrescentadas raspas de parafina pura, até a saturação; permanência posterior em estufa a 56 ° C, com a substituição gradativa da mistura parafina + álcool butílico por parafina pura;

3 — permanência dos segmentos em parafina pura e em estufa por 5 dias;

4 — inclusão dos mesmos em parafina para a microtomização: em recipientes de papel de 3X3X2 cm, devidamente identificados, cada segmento foi coberto por parafina líquida (70-80 °C) e, após a solidificação da mesma, cada bloco foi lapidado para adaptação ao micrótomo ANCAP 781. Os cortes foram feitos em série, à espessura de 10-11 micras;

5 — na seqüência de microtomização, 8-15 secções de cada segmento foram distendidas em adesivo de Binseng sobre lâminas de 1 mm de espessura e, em chapa elétrica a 50°C. Após a distensão, todas as lâminas foram deixadas secar por 15 dias; antes da etapa seguinte, foram colocadas em xilol puro para a retirada do excesso de parafina;

6 — coloração: foi utilizado o corante misto Azul de Astra e safranina, em secções alcoólicas a 1%, na proporção 1:1; antes da coloração cada lâmina passou rapidamente por uma bateria composta por álcool etílico absoluto + xilol (1:1), álcool 90%, 70% e 50%. Após a coloração, seguiu-se a ordem inversa da bateria, para completa desidratação das secções, finalizando-se com xilol puro;

7 — a montagem final foi feita pela cobertura das secções com laminulas 24X50 mm, fixadas com *Entellan*.

Após a secagem por 15 dias, as secções foram examinadas em microscópio óptico *Nikkon*. Foram feitas cerca de 2.500 lâminas. as etapas de desenvolvimento mais significativas foram registradas através de fotomicroscópios e fotomacrocópios *Wild*.

Tabela 1. Meio de cultura básico de Murashigue & Skoog (mg/l)

compostos	quantidade	compostos	quantidade
NH ₄ NO ₃	1.650,000	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
KNO ₃	1.900,000	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
CaCl ₂ .2H ₂ O	440,000	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,300
MgSO ₄ .7H ₂ O	370,000	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37,300
KH ₂ PO ₄	170,000	Mioinositol	100,000
H ₃ BO ₃	6,200	ácido nicotínico	0,500
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,300	Piridoxina	0,500
KI	0,830	Tiamina	0,500
ZnSO ₄	8,600	Sacarose	30.000,000
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,250	Ágar	6.000,000

pH 5,6-5,8; Intensidade Luminosa 2-3.000 lux, Temp. média 25-27°C

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O meristema axilar ortotrópico, de 5 micras de diâmetro, é formado por um pequeno número de células meristemáticas situado no interior de outro grupamento celular de conformação circular muito característico.

com 10 micras de diâmetro. Frostal e lateralmente, o grupo meristemático está cercado por células parenquimáticas bem maiores (Figs. 1 e 2).

Não há na literatura básica, referências sobre estes meristemas. Conforme FINK (1983), esses meristemas são iniciais de gemas axilares, que se formam a partir de células meristemáticas dermatogênicas e subdermatogênicas, 2-3 mm abaixo do ápice do meristema apical caulinar. Essas células, na axila das folhas em formação, se dividem periclinalmente e originam pequenas saliências. Nestas, as células mais externas se suberificam e as imediatamente abaixo, se tornam parenquimáticas; na base, algumas permanecem meristemáticas. Com o alongamento do eixo, expansão da base das folhas e a formação do cortex, estes primórdios ficam imersos no parênquima cortical, 1-2 mm abaixo da epiderme.

CUTLER (1987) faz menção a meristemas destacados, regiões do meristema apical que ficam isoladas, devido à vacuolização e diferenciação intermediárias, e que permanecem dormentes ou inibidos até serem estimulados ao desenvolvimento em gemas. Salienta que, sem dúvida, os estímulos devem ser de natureza hormonal, mas o fenômeno ainda não está completamente elucidado. Cita a interferência de ações correlativas entre a folha e a respectiva gema axilar completa, quando a folha jovem pode estimular o seu desenvolvimento. Essas correlações entre estruturas de plantas em desenvolvimento, são apresentadas e discutidas por CHAMPAGNAT (1974).

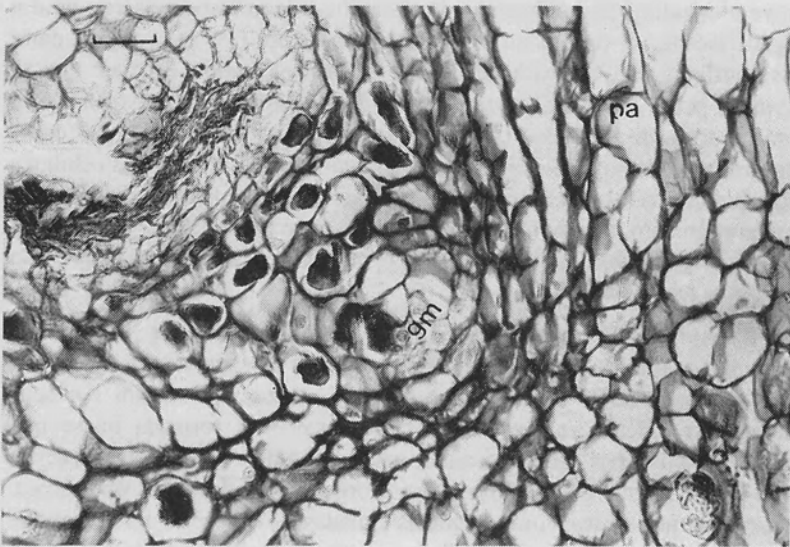
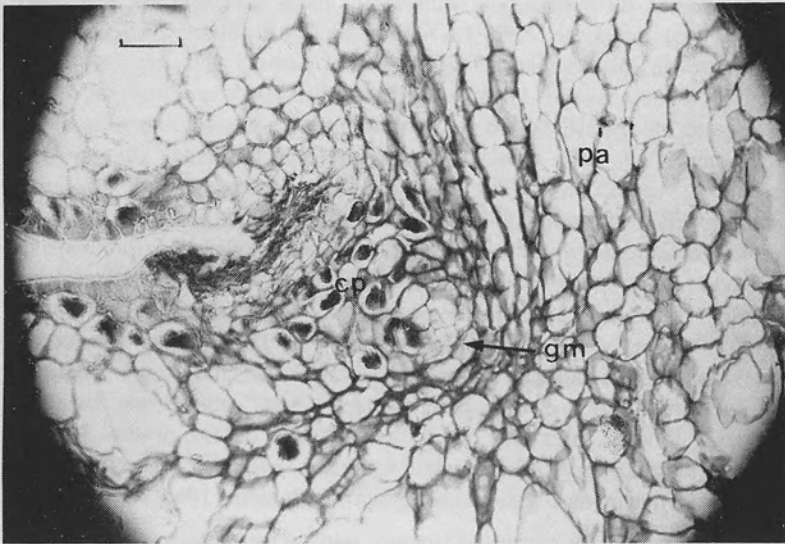
No caso das araucariáceas, estas correlações são claramente de dependência do meristema apical, como pode se observar pelas brotações em caules decapados. FINK (1983) verificou que os meristemas axilares da araucária permanecem embudados na casca secundária, na base das cicatrizes foliares de indivíduos adultos e, que podem ser estimulados ao desenvolvimento pela defoliação das árvores por parasitas.

No caso em estudo, qualquer fator químico que interfira no desenvolvimento destes meristemas deverá ser orgânico ou inorgânico (Tabela 1). ZANETTI *et. al.* (1987) verificaram que a variação da concentração do mibomesinol, considerado como fator de crescimento, implica na variação do número de meristemas axilares que se desenvolvem em um segmento, conforme a posição no caule, mas em função da variação na concentração de glicina. O assunto, na realidade é muito complexo, se tivermos em conta que existe também uma correlação de dominância entre os meristemas axilares: os superiores inibem o desenvolvimento dos situados mais abaixo (Fig. 3); e, que fatores como teor endógeno de hormônios naturais, estações do ano, fatores ambientais de cultivo, possivelmente exerçam influências nas respostas desses meristemas. Entretanto, como pode-se observar, em meio MS/2, os meristemas que se desenvolvem, o fazem de maneira que pode ser considerada normal, podendo-se obter plantlets e, posteriormente, indivíduos normais.

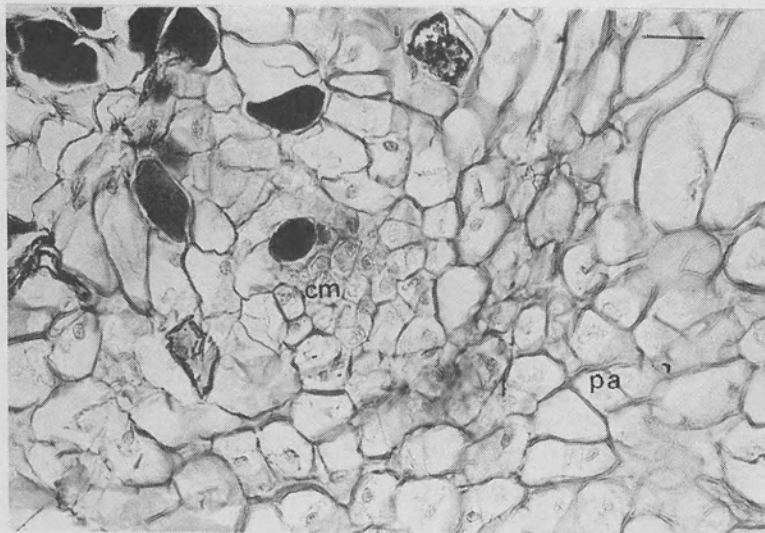
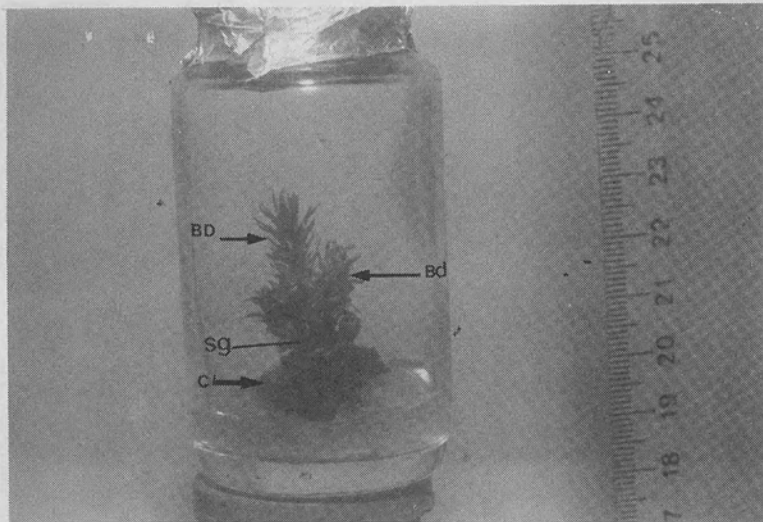
Pelo que verificou, o meristema axilar entra em atividade logo nos primeiros dias de cultivo, os situados na parte superior dos segmentos sendo os mais precoces (Figs. 4 a 6). Nestas figuras observa-se o aumento do número de células meristemáticas. Nas figuras 5 a 9, que retratam o desenvolvimento médio, entre o 4º e 6º dias, pode-se constatar que o primeiro tecido meristemático que se diferencia é a protoderme. O aumento do número de suas células ocorre preferencialmente por divisões anticlinais, verificadas pelas posições dos núcleos muito próximos, resultantes da orientação das divisões. Nas figuras 9 a 11, podem ser vistas divisões periclinais e anticlinais das células situadas abaixo da protoderme. Em média, no 7º e 8º dias de cultivo, o meristema apical dos futuros gema e broto, já está praticamente organizado, podendo-se notar que a protoderme não está ligada às células parenquimáticas do córtex adjacentes. Neste estágio já se verifica a protoderme, uma região central e uma subprotodérmica e, dois pontos laterais onde estão sendo formados primórdios foliares, além do início de formação do procâmbio. Pode-se verificar também que há participação das células parenquimáticas do córtex na formação da região basal do meristema apical (Fig. 10).

Até esta etapa de desenvolvimento, não se reconhece ainda todas as considerações feitas por GRIFFITH (1952), ESAU (1972) e CUTLER (1987), sobre a estrutura do meristema apical caulinar de ginóspERMAS em geral e araucariáceas em particular. De acordo com ESAU (1972), a maior parte das coníferas têm, na camada celular superficial, células iniciais que se dividem periclinalmente, razão porque para elas não é aplicável a teoria túnica-cópus de SCHIMMEL (1924). O meristema apical seria composto por um grupo de iniciais apicais (2-3 células centrais de 2-3 camadas celulares superficiais), células mães centrais (abaixo das primeiras) e constituindo um grupamento pouco maior. As células centrais e laterais do mesmo, dariam origem às células da medula; as mais externas, as células que irão formar os tecidos do córtex.

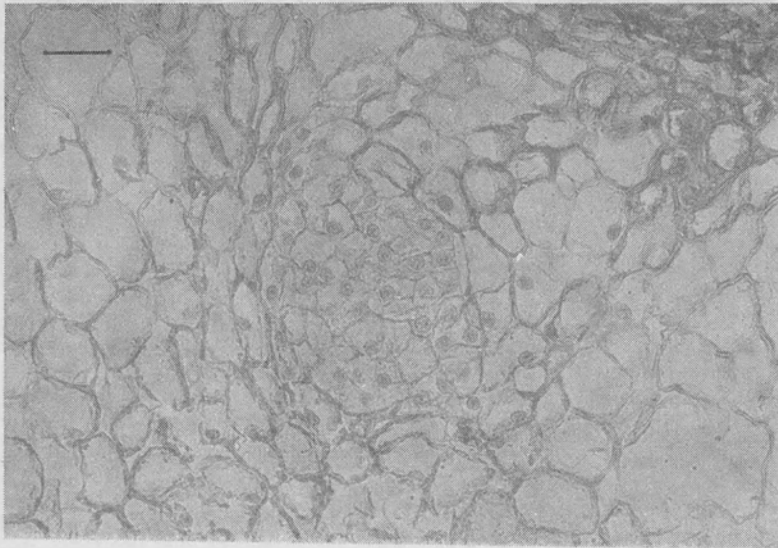
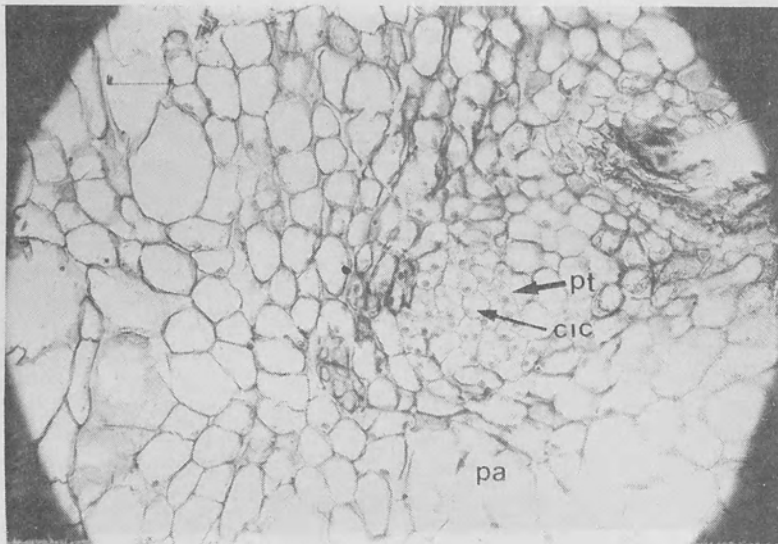
Entretanto, Esau (1972), cita os gêneros *Araucaria*, *Cupressus*, *Thujaopsis* e *Agathis* como exemplos de exceções ao exposto anteriormente, uma vez que muitas espécies, dos gêneros citados, apresentam nos seus meristemas apicais uma camada celular superficial formada quase que exclusivamente por divisões anticlinais. Portanto, para estas espécies, pode-se considerar que os ápices têm a organização do tipo corpo-túnica, constituída por túnica, com as iniciais situadas no centro do ápice; cópus, com as iniciais representadas pelo grupamento correspondente às células mães centrais e abrangendo ainda a região periférica (meristema fundamental do córtex segundo FOSTER (1949) e, a região meristemática da medula (meristema fundamental do cilindro central, com o procâmbio).



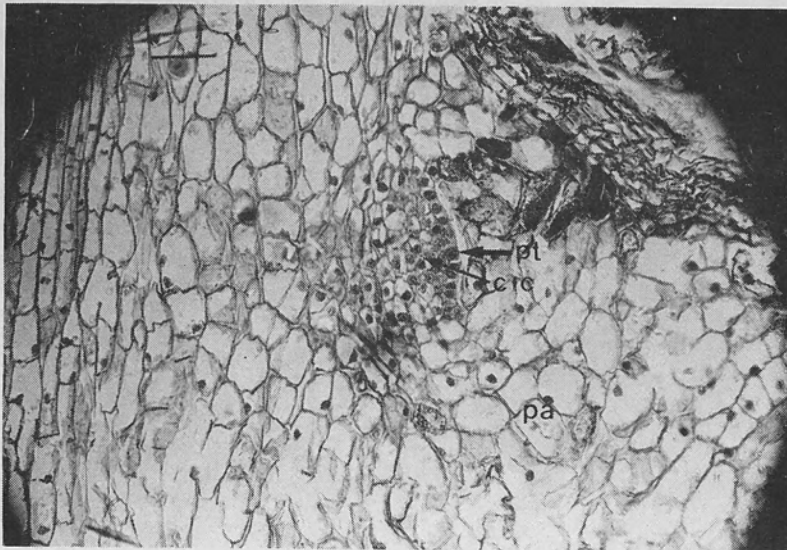
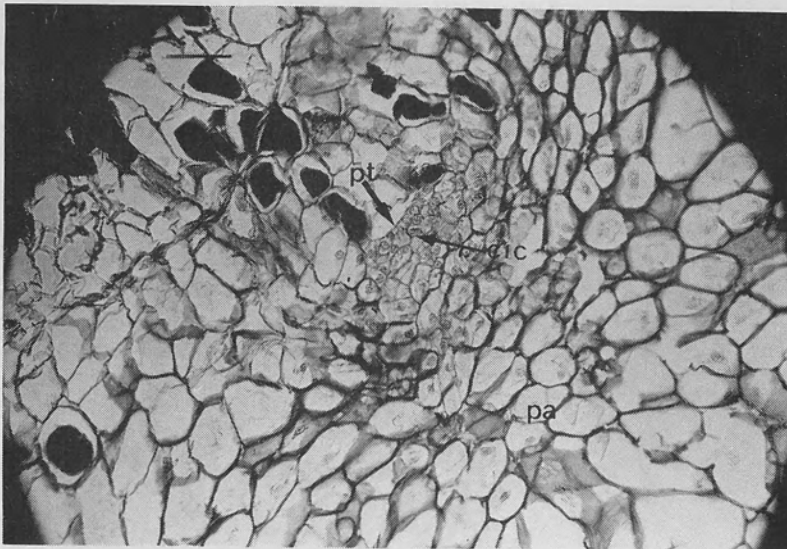
Figs. 1 e 2. *Araucaria angustifolia*, meristema axilar ortotrópico de segmento caulinar, gm - grupo meristemático, cp - células parenquimáticas, pa - parênquima cortical; 1, secção longitudinal tangencial (escala: 0,1 mm) detalhe da figura anterior (escala: 0,0625 mm).



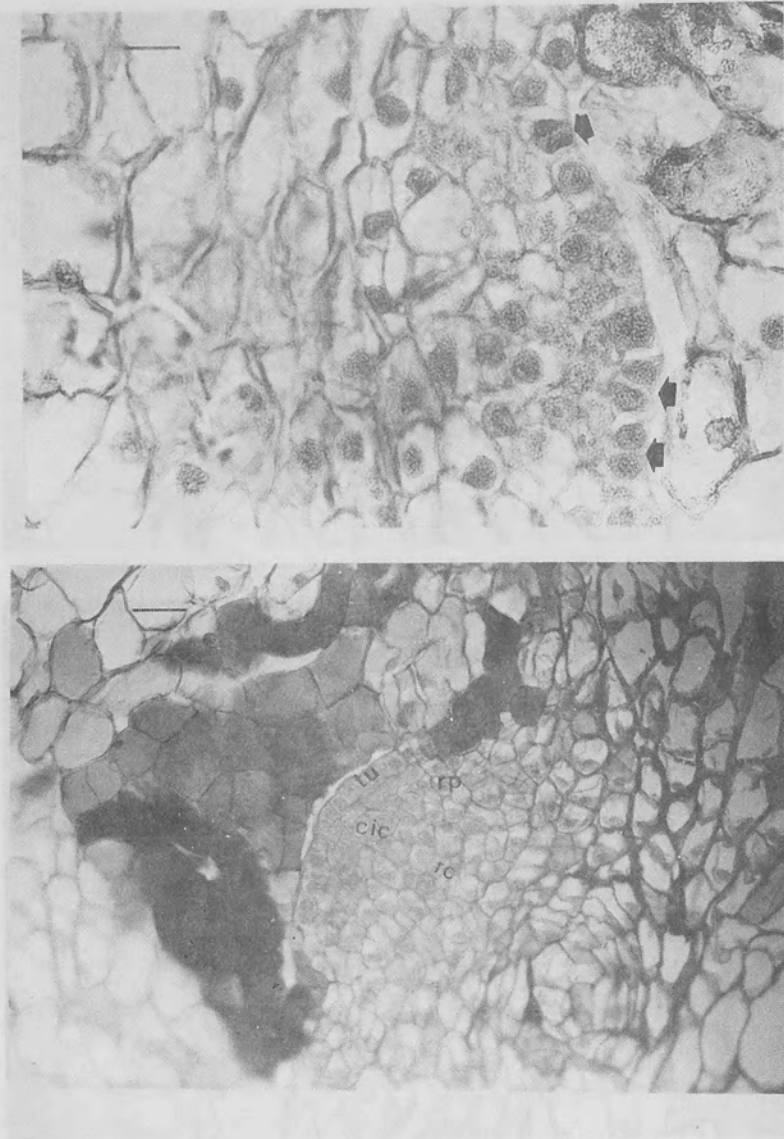
Figs. 3 e 4. *Araucaria angustifolia*; 3, segmento caulinar após 45 dias de cultivo, Sg - segmento, C - calo friável, BD - broto axilar dominante, Bd - broto axilar dominado; 4, meristema em fase inicial de desenvolvimento e organização, secção tangencial, cm - células meristemáticas, pa - parênquima cortical (escala: 0,1 mm).



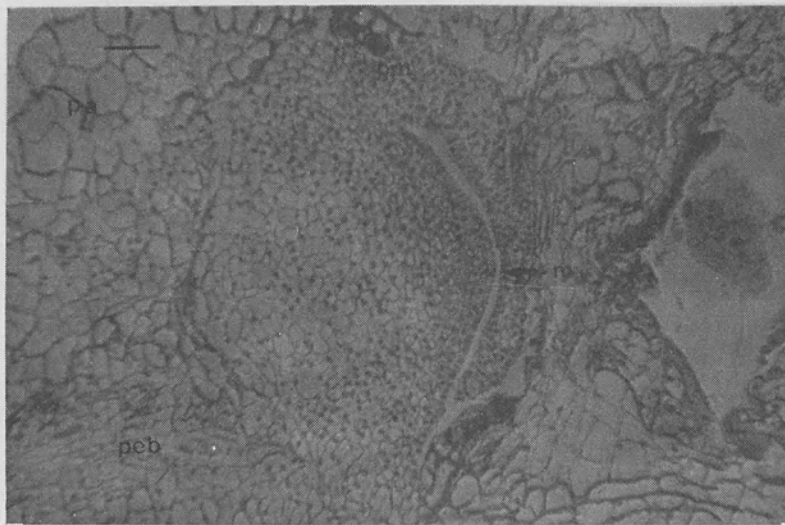
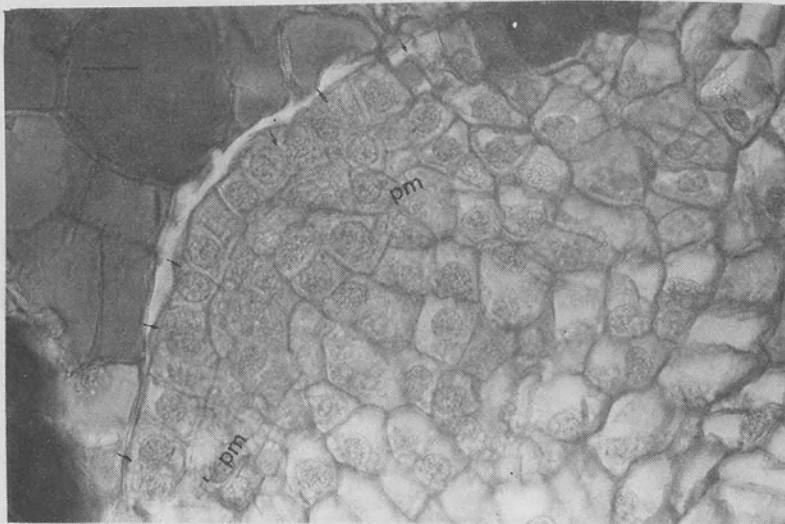
FIGS. 5 e 6. *Araucaria angustifolia*, meristema axilar no 40-50 dia de cultivo do segmento, secção longitudinal tangencial; 5, pt - protoderme, cic - células iniciais do corpus, pa - parênquima cortical (escala: 0,1 mm); 6, detalhe da figura anterior (escala: 0,0625 mm).



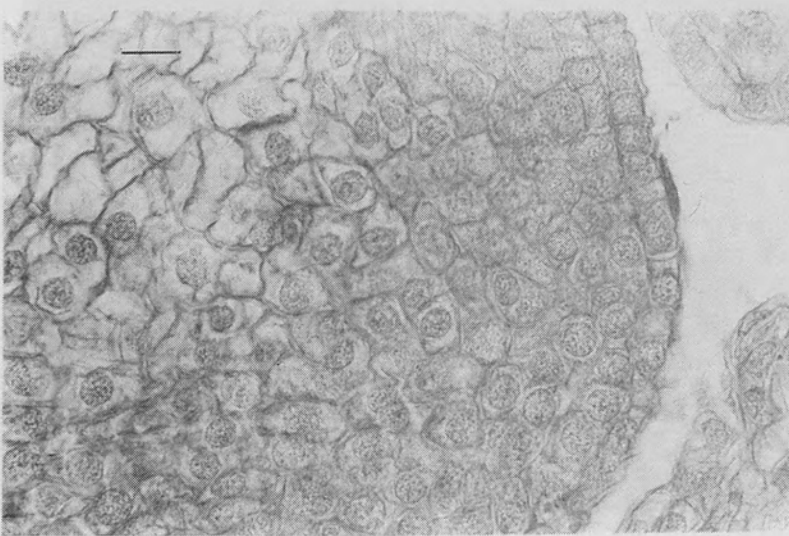
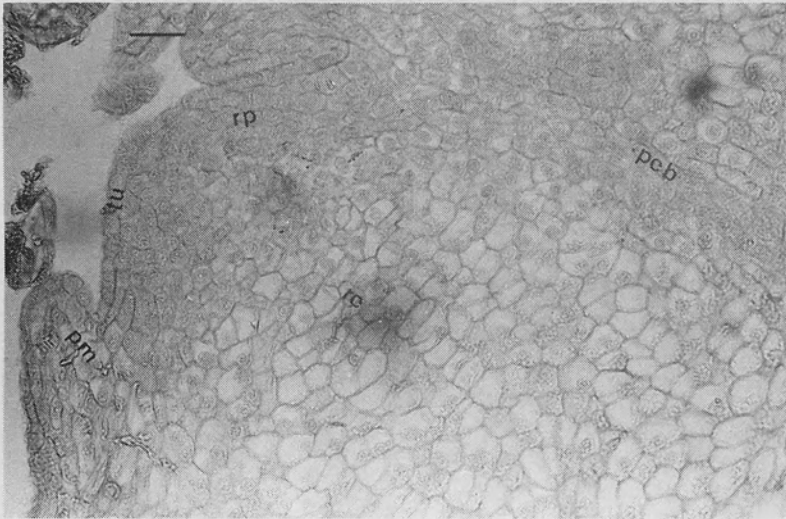
Figs. 7 e 8. *Araucaria angustifolia*, 7, meristema em fase pouco mais adiantada de desenvolvimento e organização (40-50 dia de cultivo), secção longitudinal tangencial (escala: 0,1 mm); 8, protoderme com divisões anticlinais das células visíveis; pt - protoderme, cic - células iniciais do corpus, pa - parênquima cortical (escala: 0,1 mm).



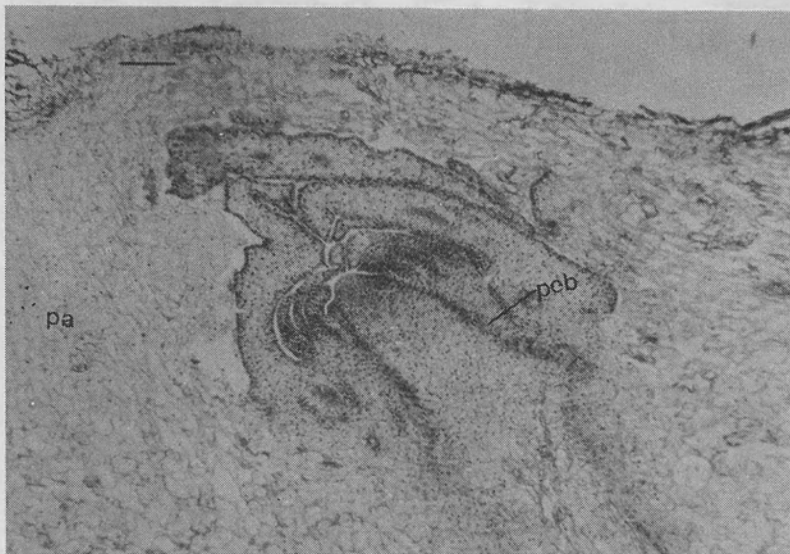
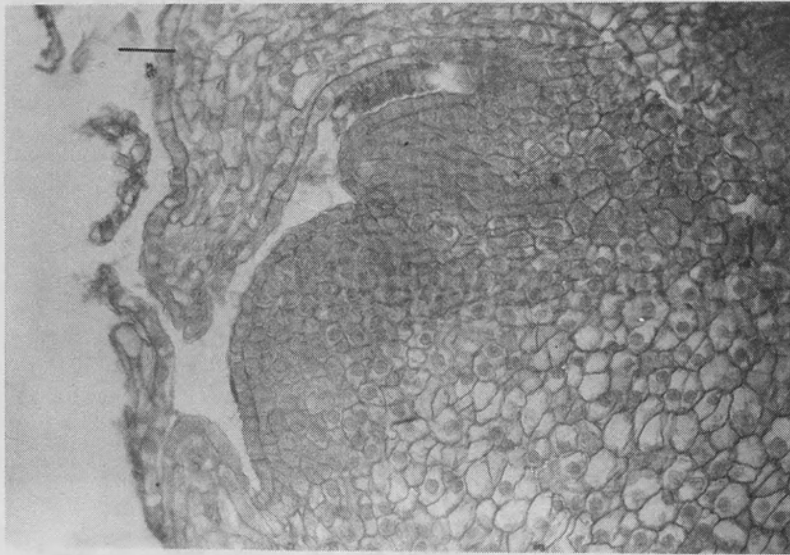
Figs. 9 e 10. *Araucaria angustifolia*, meristema em fase pouco mais adiantada de desenvolvimento e organização (40-50 dia de cultivo), secção longitudinal tangencial; 9, as setas assinalam paredes anticlinais de divisões celulares (escala: 0,025 mm); 10, meristema axilar já quase totalmente organizado em meristema apical de gema e broto axilar, pt - túnica, cic - células iniciais do corpus, rp - região periférica do corpus, rc - região central do corpus (escala: 0,0625 mm).



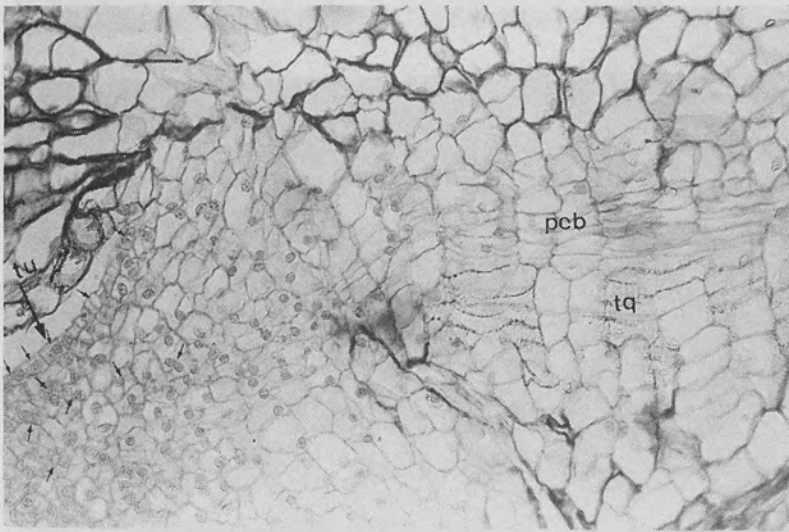
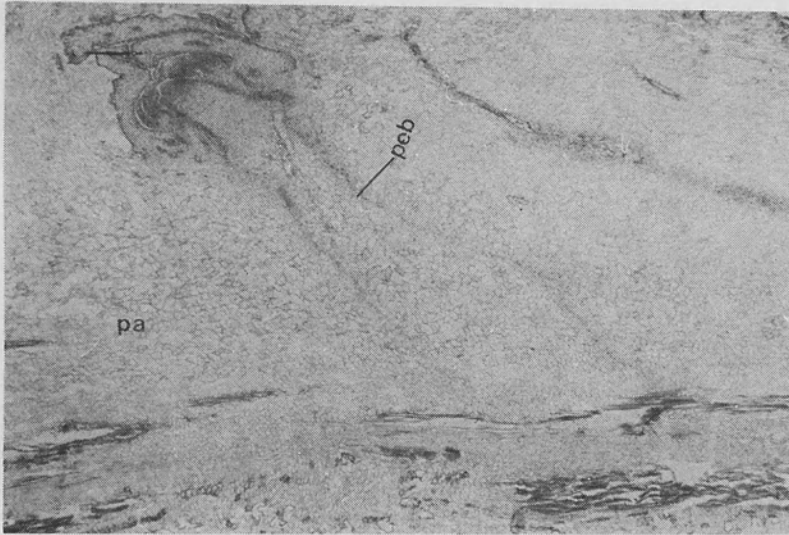
Figs. 11 e 12. *Araucaria angustifolia*; 11, meristema axilar já quase totalmente organizado em meristema apical de gema e broto axilar, detalhe da túnica, as setas indicam divisões anticlinais (escala: 0,025 mm); 12, gema parcialmente organizada, secção longitudinal tangencial, ma - meristema apical, pm - primórdio foliar, peb - procambio, pa - parênquima cortical (escala: 0,0625 mm).



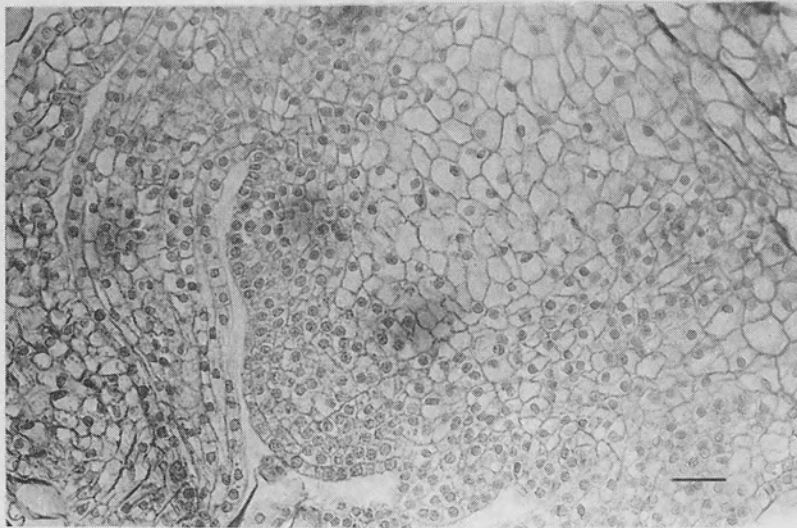
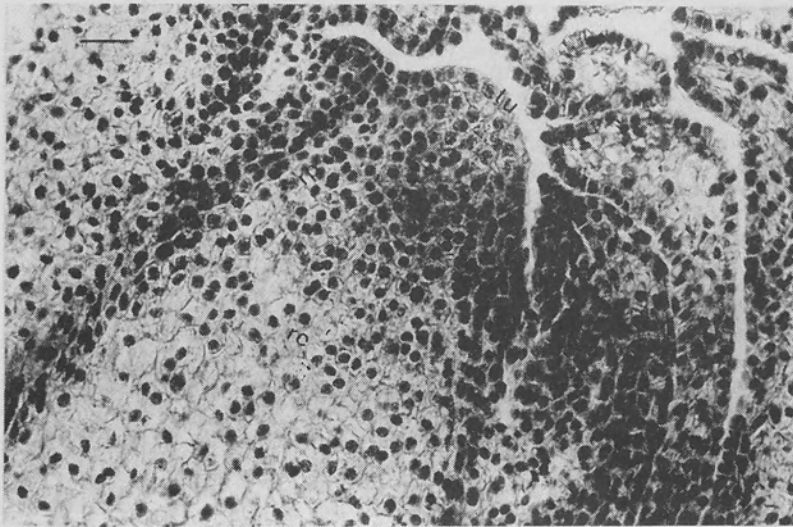
Figs. 13 e 14. *Araucaria angustifolia*, meristema apical com primórdios foliares (= gema axilar), secção longitudinal tangencial; 13, tu - túnica, rp - região periférica do corpus, rc - região central do corpus, pcb - procâmbio, pm - primórdio foliar (escala: 0,0625 mm); 14, detalhe da figura anterior (escala: 0,025 mm).



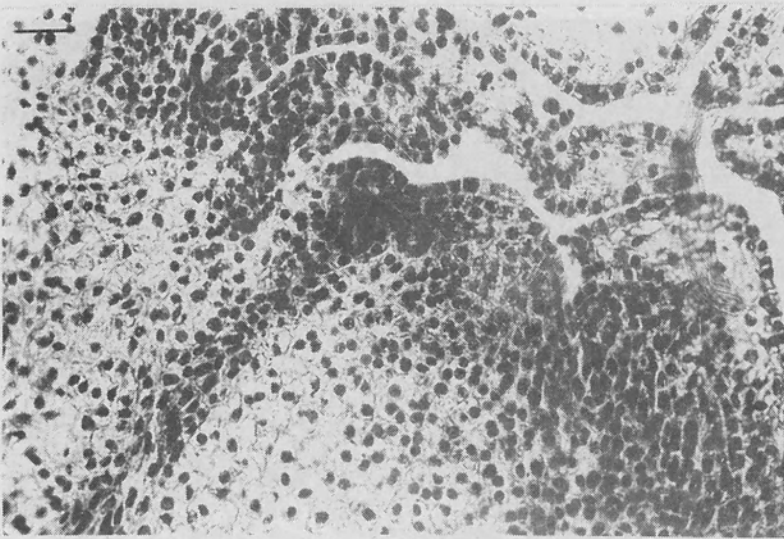
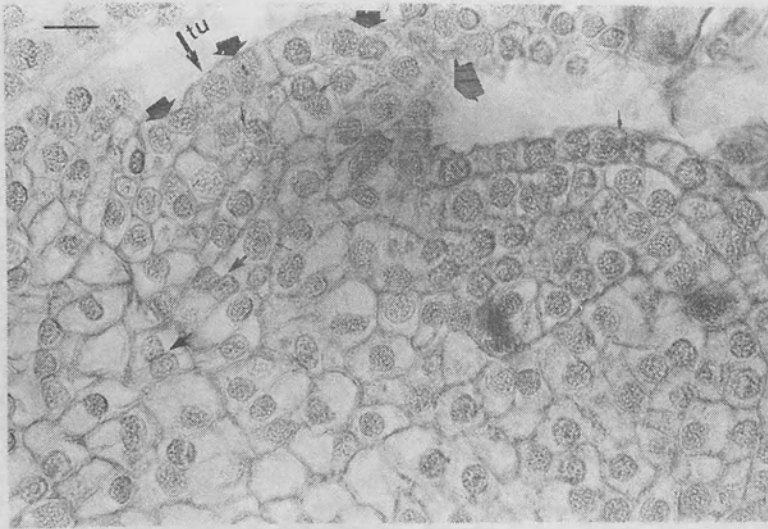
Figs. 15 e 16. *Araucaria angustifolia*; 15, meristema apical com primórdios foliares (= gema axilar), entre 8^o-10^o dia de cultivo, seção longitudinal tangencial (escala: 0,0625 mm); 16, fotomicrografia de gema axilar no 10^o dia de cultivo, pa- parênquima cortical, pcb - procambio (escala: 0,1667 mm).



Figs. 17 e 18. *Araucaria angustifolia*; 17, fase mais adiantada de desenvolvimento da gema, devido à atividade do meristema apical formado, 110-130 dia de cultivo, pa - parênquima cortical, pcb - procambio (escala: 0,1667 mm); 18, gema parcialmente organizada mostrando procambio em detalhe com traqueóides diferenciados, secção longitudinal tangencial, notar à esquerda um grande número de divisões celulares periclinais que iniciam a formação de um primórdio foliar e as divisões anticlinais na túnica; as setas assinalam os dois fenômenos; tu - túnica, pcb - procambio, tq - traqueóides (escala: 0,025 mm).



Figs. 19 e 20. *Araucaria angustifolia*, detalhe de gema com primórdios foliares em vários estágios de formação e zoneamento histológico evidente. 19, tu - túnica, rc - região central do corpus, rp - região periférica do corpus (escala: 0,025 mm); 20, o mesmo que a figura anterior (escala: 0,050 mm).



Figs. 21 e 22. *Araucaria angustifolia*; 19, detalhe de gema, mostrando primórdio foliar, tu - tística com divisões celulares anticlinais, região interna com divisões periclinais e anticlinais, causas do crescimento do primórdio (setas) (escala: 0,025 mm); 20, gema prestes a irromper pelo cortex, entre o 15^o-16^o dia de cultivo, início da fase de alongamento que precede a formação do broto (escala: 0,025 mm).

segundo FOSTER (1949)). ESAU (1972) conclui que por apresentarem organização meristemática semelhante às angiospermas, estas espécies de gimnospermas, seriam as mais evoluídas dentro deste grupo.

O que foi exposto anteriormente pode ser reconhecido para a *Araucaria angustifolia* (Figs. 10 a 12), com o meristema apical dos futuros brotos em fase final de organização (Figs 13 a 17, 19 a 22). As figuras 10, 11 e 12 ilustram as fases finais de organização do meristema apical e início de formação da gema do 9^o ao 11^o dia de cultivo do segmento. Pode-se verificar claramente, principalmente na figura 11, que as divisões das células da protoderme em formação estão ocorrendo no sentido anticlinal. Nestas mesmas figuras pode-se reconhecer o início da formação dos dois primeiros primórdios foliares (pm), representados pelo grupos de células menores. Ainda nas figuras 10, 12, 13 e 15 a 22, pode-se notar a presença e formação do procâmbio, partindo dos primórdios foliares e que, como se verá mais tarde, irá estabelecer a conexão vascular com o sistema de condução do segmento.

O meristema apical do futuro broto e caule do *plantet*, e do novo indivíduo a ser obtido, está completo nas figuras 13 a 22. Pela presença do grande número de folhas pode-se concluir que o meristema apical apresenta, ainda no interior do córtex do segmento, uma atividade sem precedente.

As figuras 16 e 17 são fotomicrografia das gemas formadas e em início da fase de alongamento. A figura 18 mostra o detalhe do procâmbio e traqueóides já diferenciados. A figura 17 mostra a participação das células parenquimáticas do córtex do segmento na formação do procâmbio, por desdiferenciação direcionada para o sistema vascular do segmento.

A partir da figura 11, aglomerados nucleares laterais e subprotodérmicos, maiores ou menores, são resultantes de divisões celulares locais (anticlinais e periclinais) e causam a formação das saliências mais ou menos pronunciadas,

que representam primórdios foliares em estágios avançados ou iniciais de desenvolvimento. Nos mais avançados, as divisões são periclinais e anticlinais; nos iniciais, predominantemente periclinais (Figs. 20 e 19 respectivamente). As gemas (Figs. 20 a 22) têm cerca de 2 mm de diâmetro, representando um aumento médio de 400 a 500 vezes o volume inicial do meristema axilar, com diâmetro médio de 5-6 micras.

CONCLUSÕES

Os meristemas axilares de segmentos caulinares de araucárias de 30-60 dias, cultivadas *in vitro*, em meio básico de MURASHIGUE & SKOOG, se

organizam e se desenvolvem formando ápices meristemáticos caulinares normais, que por intensa atividade formam gemas com inúmeras folhas. Com o alongamento do eixo caulinar compactado (entre-nós muito curtos), originam brotos ortotrópicos que irrompem através do córtex, após o 13^o ao 15^o dia de cultivo. A estrutura do meristema apical formado, comparada à do meristema apical caulinar de origem seminal de outras espécies da mesma família (GRIFFITH, 1952) é normal, podendo-se esperar portanto, que brotos obtidos a partir dos segmentos cultivados *in vitro* e nas condições citadas, após enraizamento, reconstituam plantas normais e aproveitáveis para fins de reflorestamento em bases clonais. Estudos comparativos à atividade do meristema apical caulinar de recém germinados poderão e estarão sendo feitos para maior consistência das observações encontradas.

RESUMO

Foram feitos estudos anatômicos sobre a organização e desenvolvimento dos meristemas axilares ortotrópicos de segmentos caulinares de *Araucaria angustifolia* cultivados *in vitro*, em meio básico de MURASHIGUE & SKOOG, sem reguladores de crescimento. Os resultados mostraram que estes meristemas formam ápices caulinares normais, razão porque pode-se esperar que plantas normais venham a ser obtidas a partir dos mesmos.

PALAVRAS CHAVE: meristemas-axilares-ortotrópicos, micropropagação, *Araucaria angustifolia*.

SUMMARY

Anatomical aspects on the orthotropic axillary meristems organization and development of *Araucaria angustifolia* seedlings stem segments cultivated in Murashigue & Skoog's basal medium without growth regulators, were carried out. Provided that results showed normal shoots with normal apical meristem were developed from axillary bud meristems, normal *plantlets* and plants can be expected from *in vitro* stem segments cultivated on the cited conditions.

KEY WORDS: orthotropic axillary shoots, micropropagation, *Araucaria angustifolia*.

RESUMÉ

Études anatomiques sur l'organisation et développement des mères axillaires des microboutures de jeunes plantes d'*Araucaria angustifolia* cultivées in vitro sur le milieu de culture de Murasjoguc & SKOOG, sans régulateurs de croissance, ont été réalisées. Les résultats montrent que ces mères forment bourgeons ou apex caulinaire normaux, raison pour laquelle on peut espérer plantules normaux dans les conditions citées.

MOTS CLÉS: mères axillaires orthotropes, micropropagation, *Araucaria angustifolia*.

AGRADECIMENTOS— Ao Professor Luiz Fernando Contin pela orientação e auxílio na utilização do fotomicroscópio do Depto. de Botânica, SCB, UFPR. Ao Professor Yves J. Sbalqueiro pela orientação e utilização do fotomicroscópio do Depto. de Genética, SCB, UFPR. À Professora Aracely V. Gomes pela orientação e utilização dos fotomicro e fotomacrocópio do Depto. de Tecnologia, SCA, UFPR.

BIBLIOGRAFIA

- BIGOT, C. & ENGELMANN, F. 1987. Vegetative propagation in vitro of *Cunninghamia lanceolata* (Lamb) Hook. in BONGA, J. M. & J. D. DURZAN (Eds). *Cell and tissue culture in forestry*, v. 3, Martinus Nijhoff Publ., Netherlands, pp. 114-127.
- CHAMPAGNAT, P. 1974. Introduction à l'étude des complexes correlations. *Rev. Cyt. et Biol. Veg.* 37: 175-208.
- CUTIER, E. G. 1987. Anatomia Vegetal. Parte III. Orgãos. Experimentos e Interpretação. Ed. Livraria Roca Ltda., São Paulo. 336 pp.
- FINK, S. 1983. The occurrence of adventitious and preventitious buds within the bark of some temperate and tropical trees. *Amer. J. Botany* 70 (4): 532-542.
- FOSTER, A. S. 1949. *Practical Plant Anatomy*. D. van Nostrand Co., New York.
- GRIFFITH, M. M. 1952. The structure and growth of the shoot apex in *Araucaria*. *Amer. J. Botany* 39: 253-262.

- GURGEL, J. T. A. & GURGEL-FILHO, C. A. 1967. Métodos de enxertia para o pinheiro brasileiro - *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Ktze., visando a formação de pomares porta-sementes. *Silvicultura*, São Paulo, 6: 153-155.
- IRITANI, C. 1981. *Ação de reguladores do crescimento na propagação vegetativa por estaquia de Ilex praguaienses St. Hilaire e Araucaria angustifolia (Bert) O. Ktze.* Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, SCA, UFPR, 163 pp.
- MAENE, L. & DEHBERG, P. C. 1987. Micropropagation in the genus *Araucaria* in Cell and Tissue Culture in Forestry, v. 3, BONGA, J.M. & J. D. DURZAN Eds., Martinus Nijhoff Publ., Netherlands, pp. 176-184.
- SCHMIDT, A. 1924. Histologische Studien an Phanerogamen Vegetationspunkten. *Bot. Archiv* 8: 345-404.
- ZANETTE, F. et. al. 1987. Aspectos básicos da cultura in vitro da *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Ktze. I. Organização e desenvolvimento dos meristemas axilares. *Rev. Setor C. Agrárias UFPR*, Curitiba, 9: 7-13.

Recebido em: 20.03.1992.