



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE BIODIVERSIDADE E FLORESTAS
BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

**APLICAÇÕES DA CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS EM
PLANTAS MEDICINAIS NATIVAS DA AMAZÔNIA**

MILENA ÁUREA SANTANA DOS SANTOS

SANTARÉM, PARÁ
2019

MILENA ÁUREA SANTANA DOS SANTOS

**APLICAÇÕES DA CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS EM
PLANTAS MEDICINAIS NATIVAS DA AMAZÔNIA**

Trabalho de Conclusão de Curso em forma de revisão de literatura apresentado ao Instituto de Biodiversidade e Florestas, da Universidade Federal do Oeste do Pará, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientado: Milena Áurea Santana dos Santos
Orientador: Prof. Dr. Élcio Meira da Fonseca
Júnior

SANTARÉM, PARÁ
2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP) Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

- S237a Santos, Milena Áurea Santana dos
Aplicações da cultura de tecidos vegetais em plantas medicinais nativas da Amazônia / Milena Áurea Santana dos Santos. – Santarém, 2019.
26 fl. : il.
Inclui bibliografias.
Orientador: Élcio Meira da Fonseca Júnior.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas, Bacharelado em Biotecnologia.
1. Amazônia. 2. Micropropagação. 3. Plantas medicinais. I. Fonseca Júnior, Élcio Meira da, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 615.32

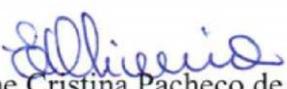
MILENA ÁUREA SANTANA DOS SANTOS

**APLICAÇÕES DA CULTURA DE TECIDOS EM
PLANTAS MEDICINAIS NATIVAS DA AMAZÔNIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biodiversidade e Florestas, da Universidade Federal do Oeste do Pará, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Aprovado em 21/02/2019


Prof. Dr. Thalis Ferreira dos Santos – Presidente da Banca
Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA


Profa. Dra. Elaine Cristina Pacheco de Oliveira – 1º Examinadora
Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA


Profa. Dra. Fabrizia Sayuri Otani – 2º Examinador
Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA

AGRADECIMENTOS

Deixo em especial, o meu agradecimento ao meu Deus, por seu infinito e incondicional amor, por me permitir concluir mais esta etapa da minha vida. Sem Ele nada seria possível.

Aos idealizadores desse momento meus pais, Mizael Santos e Lucicléa Santos, pelo apoio financeiro, incentivo e paciência ao longo desses anos e por serem os melhores do mundo.

A minha linda mãe, Lucicléa Santos, por acreditar em mim mais do que mesma e por não me deixar desistir quando as forças se esgotaram.

A minha linda e amada filha, Lia Santana, por gerar em mim vontade e força para ir além sempre.

Aos meus irmãos, Milielkson Santos e Mikaela Áurea, por todo apoio e por serem os melhores do mundo.

Ao meu namorado, Ricardo Feline, por ser tão presente, pela paciência e dedicação.

A minha querida amiga Eyllen Serrão, pela parceria, pelas comidas compartilhadas e por todo conhecimento partilhado ao longo desses anos. A Fernanda Alves pela amizade e cumplicidade.

Ao meu querido orientador Dr. Élcio Meira, pela oportunidade, paciência, atenção, e principalmente por se dispor a me orientar e compartilhar seus conhecimentos.

A professora Kelly Castro, pelo esforço em prol do reconhecimento do curso, pelo incentivo ensinamentos e carinho.

A todos os professores do curso de Biotecnologia, técnicos do IBEF e alunos que deixaram um pouco dos seus conhecimentos.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

RESUMO

O Brasil é considerado o país detentor da maior biodiversidade do planeta, abriga inúmeras plantas medicinais com propriedades terapêuticas notáveis, como é o caso da Amazônia. Estas plantas são frequentemente coletadas de forma predatória e indiscriminada, o que pode torná-las vulneráveis à extinção. Além da coleta predatória, o uso de plantas medicinais como matéria prima pode ser comprometido por fatores como a heterogeneidade dos indivíduos, variabilidades genética e bioquímica, sazonalidade e dificuldade de propagação. Como alternativa a estes problemas, destaca-se a cultura de tecidos vegetais que consiste em cultivar, *in vitro*, células, tecidos ou órgãos vegetais, em condições assépticas. Neste contexto, o presente estudo objetivou realizar um levantamento bibliográfico sobre as aplicações das técnicas de cultura de tecidos em plantas medicinais nativas da Amazônia. Foram consultadas bases indexadas como Google Scholar, Scielo e Periódicos da CAPES. De acordo com o levantamento bibliográfico realizado verificou-se que o emprego das técnicas de cultura de tecidos com plantas medicinais nativas da Amazônia ainda é incipiente. Dentre as técnicas, a micropropagação foi a mais empregada, em sua maioria apenas estudos realizados até a fase de assepsia e estabelecimento da cultura. Pela literatura consultada, somente três artigos realizaram estudos sobre embriogênese somática e apenas um, obteve sucesso na regeneração. De modo semelhante, poucos estudos realizaram o estabelecimento *in vitro* isolando embriões zigóticos. Verificou-se também que os estudos se concentram ainda na obtenção de calos e nenhum estudo sobre cultivo de suspensões foi encontrado e somente dois com uso de biorreatores. Para produção de fármacos *in vitro* é necessário a obtenção de calos e estes serem cultivados em meio líquido sob agitação em cultura de suspensões ou biorreatores. Considerando que os estudos ainda são incipientes, tornar-se evidente o enorme gargalo de pesquisas referente ao uso das técnicas de culturas de tecidos para plantas medicinais nativas da Amazônia.

Palavras-chave □ Amazônia; micropropagação; plantas medicinais

ABSTRACT

Brazil is considered the country with the greatest biodiversity of the planet, it houses numerous medicinal plants with remarkable therapeutic properties, as is the case of the Amazon. These plants are often collected in a predatory and indiscriminate manner, which can make them vulnerable to extinction. In addition to predatory collection, the use of medicinal plants as raw material can be compromised by factors such as heterogeneity of individuals, genetic and biochemical variability, seasonality and difficulty of propagation.

As an alternative to these problems, plant tissue culture consists of cultivating, in vitro, cells, tissues or plant organs under aseptic conditions. In this context, the present study aimed to carry out a bibliographical survey on the applications of tissue culture techniques in medicinal plants native to the Amazon. Indexed databases such as Google Scholar, Scielo and Periodicals of CAPES were consulted. According to the bibliographical survey carried out, it was verified that the use of tissue culture techniques with medicinal plants native to the Amazon is still incipient. Among the techniques, micropropagation was the most employed, mostly only studies performed until the asepsis and culture establishment phase. From the literature consulted, only three articles carried out studies on somatic embryogenesis and only one, was successful in regeneration. Similarly, few studies have performed in vitro establishment isolating zygotic embryos. It was also verified that the studies are still focused on callus and no study on suspension culture was found and only two with use of bioreactors. For in vitro drug production it is necessary to obtain callus and these are cultivated in liquid medium under agitation in suspension or bioreactor culture. Considering that the studies are still incipient, the enormous bottleneck of research regarding the use of tissue culture techniques for medicinal plants indigenous to the Amazon region becomes evident.

Keywords □ Amazon; micropropagation; medicinal plants

SUMÁRIO

Introdução -----	01
Material e métodos -----	02
Micropropagação -----	03
Cultura de Calos, Suspensões e Biorreatores na produção de metabólitos secundários <i>in vitro</i> -----	08
Embriogênese somática -----	
Erro! Indicador não definido.	
Cultura de embriões zigóticos-----	14
Conclusão -----	18
Referências bibliográficas -----	18
Anexo -----	23

Aplicações da cultura de tecidos vegetais em plantas medicinais nativas da Amazônia,

SANTOS, M.A.S; PACHECO, E.O.; OTANI, F.S.; FONSECA JÚNIOR, E.M.

INTRODUÇÃO

Desde o surgimento da humanidade, os produtos naturais, predominantemente da flora, são utilizados para fins medicinais. Assim, sendo considerada uma das práticas mais remotas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (Andrade et al., 2007). Planta medicinal pode ser conceituada como toda planta que exerça alguma função terapêutica ao ser administrada ao homem ou animal (Lopes et al., 2005), sem a utilização de princípios ativos isolados (Schenkel et al., 2000). Ao ser utilizada pode auxiliar o organismo a regularizar suas funções fisiológicas, como restabelecer o sistema imune, promover a desintoxicação e o rejuvenescimento (França et al., 2008). Essas plantas são fontes ricas de metabólitos especializados e altamente diversificados com importantes propriedades que têm cooperado para novas descobertas de novas estratégias terapêuticas (Rai et al., 2017).

O uso das plantas medicinais para propósitos farmacêuticos, no entanto, pode ser comprometido por alguns fatores, como a heterogeneidade dos indivíduos, a variabilidades genética e bioquímica (Vieira, 2009; Verma & Shukla, 2015), e dificuldade de propagação vegetal (Pereira, 2007) e influência de fatores ambientais (Verma & Shukla, 2015). Ademais, as plantas que produzem compostos bioativos são frequentemente obtidas a partir de coleta predatória e indiscriminada (Villareal et al., 1997), o que pode torná-las vulneráveis à extinção.

Como alternativa para solucionar esses problemas, destaca-se a cultura de tecidos vegetais que consiste em cultivar, *in vitro*, células, tecidos e órgãos vegetais, a partir de um segmento do vegetal, denominado explante, em condições assépticas, nutricionais e ambientais controladas (Hussain et al., 2012). Essas técnicas têm auxiliado na propagação clonal de diversos genótipos de plantas medicinais, pois permite a conservação do germoplasma, na obtenção

de novas fontes de variabilidade por meio do cultivo de calos e células, na engenharia genética e na otimização da produção de metabólitos secundários (Botta et al., 2001; Rao & Ravishankar, 2002; Arikat et al., 2004).

Quanto à produção de metabólitos secundários *in vitro* apresenta uma série de vantagens sobre os estudos com plantas íntegras, incluindo a geração de material necessário para os estudos em tempo reduzido, células indiferenciadas, estado de desenvolvimento das células relativamente uniformes, ausência da interferência de microrganismos e, sobretudo, o ciclo vegetativo reduzido (Croteau et al., 2000). Além disso, na cultura de células de plantas as taxas de biossíntese podem ser aumentadas, o que facilita consideravelmente os estudos (Santos et al., 2007).

Apesar de o Brasil ser considerado o país que detém a maior biodiversidade do planeta, abrigando inúmeras plantas possuidoras de propriedades medicinais, muitos princípios ativos ainda não foram identificados (Lewinsohn e Prado, 2002). Ainda que a região Amazônica apresente inúmeras espécies de grande importância medicinal, pode-se inferir que os resultados de pesquisas nesta área ainda são incipientes. Além disso, com o objetivo de fornecer material para indústrias farmacêuticas, inúmeras dessas plantas são coletadas de forma extrativista (Bertoni, 2003). Devido a isso, crescem o desmatamento e a retirada de madeira, fatores que causam, a cada ano, a extinção de muitas espécies, inclusive as não estudadas quanto ao seu potencial industrial.

Torna-se evidente, portanto, que a cultura de tecidos pode ser uma técnica que auxilia a conservação e o aproveitamento industrial de plantas. Logo, o objetivo do presente estudo foi realizar um levantamento bibliográfico sobre as aplicações das técnicas de cultura de tecidos em plantas medicinais nativas da Amazônia.

MATERIAL E MÉTODOS

As bases de dados utilizadas na busca por trabalhos relacionados à “cultura de tecidos de plantas medicinais nativas da Amazônia” foram Google Scholar e Scielo, utilizando a combinação da palavras-chave plantas medicinais da Amazônia e: cultura de tecidos; calos; suspensões; germinação *in vitro*; embriogênese somática; embriogênese zigótica; sementes sintéticas. Também foram consultadas as bases de dados Science Direct, Pubmed, Web of

knowledge e Periódicos da CAPES. Os estudos encontrados sobre “cultura de tecidos de plantas medicinais nativas da Amazônia” foram publicados entre os anos de 2002 e 2018. Foram incluídos artigos de revisão e artigos originais para melhor compreensão e comparação sobre uso das técnicas de cultura de tecidos em plantas medicinais nativas da Amazônia.

TABELA 1: Levantamento das técnicas de cultura de tecidos aplicadas em plantas medicinais nativas da Amazônia.

Espécie (nome vernacular)	Técnica	Uso medicinal	Referência
<i>Acmella oleracea</i> (L.) R. K. Jansen (Jambú)	Micropropagação	Anestésico, males da garganta, dor de dente	Calderaro et al. (2008)
<i>Acmella oleracea</i> (L.) R.K. Jansen (Jambú)	Micropropagação e Biorreatores	Anestésico, males da garganta, dor de dente	Malosso (2007)
<i>Aniba rosaeodora</i> Ducke (Pau rosa)	Micropropagação	Calmante, combate a insônia	Brandão (2011)
<i>Aniba rosaeodora</i> Ducke (Pau rosa)	Cultura de Embriões Zigóticos	Calmante, combate a insônia, estimulante, calmante	Handa et al. (2005)
<i>Annona mucosa</i> (Jacq.) (Biribá)	Cultura de calos	Atividade bactericida e antifúngica	e Barboza et al. (2014)
<i>Astrocaryum ulei</i> Mart. (Murmuru)	Cultura de Embriões Zigóticos	Atividade emoliente e melhora o sistema imune	Pereira et al. (2006)
<i>Byrsonima cydoniifolia</i> A. Juss (Murici)	Cultura de Embriões Zigóticos	Auxilia no funcionamento dos vasos sanguíneos e melhora o humor	Martendal et al. (2013)
<i>Caesalpinia ferrea</i> Martius (Jucá)	Micropropagação	Febre, alívio de tosse crônica, combate anemia	Silva (2015)
<i>Carapa guianensis</i> Aublet (Andiroba)	Micropropagação	Tratamento de distensões musculares, antibacteriana	Brandão (2011)
<i>Cissus sicyoides</i> L.	Cultura de calos	Inflamação muscular, ativação da circulação sanguínea.	Rebouças (2009)
<i>Cissus sicyoides</i> L. (Cipópucá)	Micropropagação	Inflamação muscular, epilepsias, derrame cerebral, hipertensão	Abreu et al., 2003
<i>Cissus verticillata</i> (L.) Nicolson e C. E. Jarvis (Insulina vegetal)	Cultura de calos	Inflamação muscular, epilepsias, derrame cerebral, hipertensão	Rocha (2014)
<i>Cono-bea scoparioides</i> Benth. (Pataqueira)	Micropropagação	Ação acaricida e antifúngica	Costa et al. (2016)
<i>Copaifera langsdorffii</i> anticancerígeno, cicatrizante	Micropropagação	Anti-inflamatório,	Noletto e Silveira, Desf. (Copaíba) 2004

<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. (Copaíba)	Cultura de calos	Anti-inflamatório, anticancerígeno, cicatrizante	Zanotti et al. (2012)
<i>Copaifera multijuga</i> Hayne (Copaíba)	Cultura de calos, Suspensão de células e Biorreatores	Anti-inflamatório, anticancerígeno, cicatrizante	Oliveira et al. (2002)
<i>Copaifera multijuga</i> Hayne (Copaíba)	Micropropagação	Anti-inflamatório, anticancerígeno, cicatrizante	Cordeiro et al., 2004
<i>Copaifera multijuga</i> Hayne (Copaíba)	Micropropagação	Anti-inflamatório, anticancerígeno, cicatrizante	Brandão (2011)
<i>Croton cajucara</i> Benth (Sacaca)	Micropropagação	Distúrbios hepáticos e renais e diabetes	Silva et al. (2015)
<i>Dipteryx odorata</i> Aubl (Cumarú)	Micropropagação	Atividade anti-inflamatória e antiasmática	Sampaio et al. (2018)
<i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) D.C. (Pedrahume- caá)	Micropropagação	Contra diabetes	Alves et al. (2018)
<i>Genipa americana</i> (Jenipapo)	Cultura de calos	Combate anemia, estimula o apetite e afrodisíaco	Almeida et al. (2015)
<i>Genipa americana</i> L (Jenipapo)	Cultura de Embriões Zigóticos	Combate anemia, estimula o apetite e afrodisíaco	Oliveira et al. (2017)
<i>Myrciaria duhia (camu camu)</i>	Micropropagação	Cicatrizante, combate a cefaleia e fadiga	Kicuchi et al., 2002
<i>Myrciaria duhia</i> H. B. K (camu camu)	Micropropagação	Cicatrizante, combate a cefaleia e fadiga	Araújo et al. (2010)
<i>Passiflora cristalina</i> Vanderplank e Zappi (Maracujá)	Embriogênese somática	Antioxidante, analgésico, antipirético	Faria et al. (2016)
<i>Paullinia cupana</i> var. <i>sorbilis</i> (Guaraná)	Micropropagação	Melhora a capacidade cognitiva	Barbosa e Moraes, 2004
<i>Paullinia cupana</i> var. <i>sorbilis</i> (Guaraná)	Embriogênese somática	Auxilia na perda peso e atua como estimulante	Angelo et al. (2010)
<i>Pilocarpus microphyllus</i> Stapf. (Jaborandi)	Micropropagação	Auxilia na perda peso e atua como estimulante	Sabá et al., 2002
<i>Piper permucronatum</i> Yuncker (Elixir paregórico)	Cultura de calos	Contra cólicas menstruais e intestinais, problemas digestivos	Guimarães (2015)
<i>Piper tuberculatum</i> Jacq (Pimenta-macaco)	Micropropagação	Atividades sedativas, analgésicas, antiofídicas	Magalhães (2016)
<i>Protium spruceanum</i> Benth. (Breu branco)	Micropropagação	Contra dores reumáticas e musculares, anti-inflamatório	Brandão (2011)
<i>Psychotria ipecacuanha</i> (Brot.) Stokes (Ipeca)	Micropropagação	Atividade emética, expectorante, amebicida e anti-inflamatória	Reis et al., 2003
<i>Psychotria ipecacuanha</i> Brot (Ipeca)	Micropropagação	Atividade emética, expectorante e amebicida	Silva et al. (2015)
<i>Psychotria ipecacuanha</i> Brot Stokes (Ipeca)	Micropropagação	Atividade emética, expectorante e amebicida	Silva et al. (2018)

<i>Psychotria ipecacuanha</i> Brot. Stokes (Ipeca)	Micropropagação	Atividade emética, expectorante e amebicida	Lameira et al., 2008
<i>Psychotria ipecacuanha</i> Brot. Stokes (Ipeca)	Biorreator de imersão temporário	Atividade emética, expectorante e amebicida	Batistini et al. (2002)
<i>Quassia amara</i> L. (Cedro-branco)	Micropropagação	Combate flatulência, diarreia, anemia e dispepsia	Silva (2015)
<i>Schizolobium amazonicum</i> (Huber ex Ducke) Barneby (Paricá)	Micropropagação	Diarreia, disenteria e hemorragia uterina	Oliveira et al., 2002
<i>Schizolobium amazonicum</i> Huber ex Ducke (Paricá)	Micropropagação	Diarreia, disenteria e hemorragia uterina	Cordeiro et al., 2004
<i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> (Huber ex Ducke) Barneby (Paricá)	Cultura de Embriões Zigóticos	Disenteria, diarreia, hemorragia uterina	Reis et al. (2008)
<i>Uncaria guianensis</i> (Aublet) Gmelin (Unha-de-gato)	Micropropagação	Atividade imuno-estimulante e anti-inflamatório	Pereira et al., 2005
<i>Uncaria tomentosa</i> (Unha-de-gato)	Embriogênese somática	Melhora o sistema imune	Maciel et al. (2009)

Micropropagação

A micropropagação consiste na propagação clonal de um genótipo selecionado em massa permitindo a rápida produção de plantas em larga escala; e espaço reduzido (Guerra & Nodari, 2006). Representa uma das áreas mais atuantes da cultura de tecidos, devido sua eficácia e validação em resposta aos métodos aplicados (Erig, 2005). A aplicação desta ferramenta possibilita diversas vantagens, como a obtenção de vários espécimes por meio de um único explante, produção de mudas durante o ano todo, assim evitando os limites da sazonalidade, ambientação de trabalho e tempo reduzido na produção, assegura a sobrevivência de condições fitossanitária e indexação das mudas, assegura elevado potencial produtivo nas culturas em escala empresarial, além de mudas certificadas e de alto padrão (Aragão, 2011; Carvalho, 2012)

O sucesso deste processo, no entanto, depende de alguns fatores, como tipo de explante, meio de cultura, regulador de crescimento, condições de incubação, dentre outros (Deschamps, 1993; komalavalli e Rao, 2000).

No caso de plantas medicinais, a micropropagação é uma das técnicas da cultura de tecidos mais empregadas (Morais et al., 2012). De modo semelhante,

com base no levantamento bibliográfico, realizado neste estudo para plantas medicinais nativas da Amazônia essa também foi a técnica mais empregada (Tabela 1).

Uma espécie de grande importância na Amazônia e com usos também medicinais é o jambu (*Acemella oleracea* (L.) R. K. Jansen) (Tabela 1). Malosso (2007), com o intuito de estabelecer esta espécie *in vitro*, utilizou segmentos nodais (□ 1cm) e obteve 32% de propágulos vivos e descontaminados com hipoclorito de cálcio 0,25% (v□v), sendo estes utilizados na fase de multiplicação. Para esta fase, o autor verificou que o meio MS (Murashige & Skoog, 1962) acrescido de 0,1 mg/L de cinetina resultou em 100% de explantes com brotações e as gemas da região central da haste dos propágulos foram as mais indicadas, pois obteve a maior porcentagem de explantes com brotação (86,67%). Resultados semelhantes foram observados por Silva (2015) para jucá (*Caesalpinia ferrea* Martius) em que as gemas de posição central também induziram maior porcentagem de explantes com brotação (90%), e maior porcentagem de multiplicação (10,85%). De acordo com Malosso (2008), nem todas as posições das gemas na haste das plântulas são potencialmente úteis e não devem ser usadas indistintamente pois não fornecerão explantes uniformes quanto ao desenvolvimento *in vitro*.

Calderaro (2008), por outro lado, utilizou citocinas combinadas com auxinas para multiplicação do jambú. Neste caso, baixas concentrações de AIA (0,5 a 1 mg/L⁻¹) associadas a baixas concentrações de BAP (0,5 e 1,5 mg/L⁻¹) promoveram maior desenvolvimento dos propágulos. Sobre o enraizamento *in vitro* de jambú, tanto Malosso (2007) quanto Calderaro (2008) verificaram enraizamento ainda na fase de multiplicação, não havendo necessidade de transferência dos propágulos após a fase de multiplicação para meio contendo regulador que estimule este procedimento, tornando menos oneroso o processo de micropropagação da espécie.

A última fase da micropragação é aclimatização é um procedimento crítico responsável pelas maiores perdas na micropropagação. Sendo assim, é importante o controle das condições ambientais e a elaboração do substrato apropriado (Rocha, 2013). Malosso (2007) verificou que, na fase de aclimatização em casa de vegetação, o substrato plantmax foi mais indicado para

o jambú que terra e a areia, com 71,81%, 62,50% e 56,25% de sobrevivência, respectivamente, após 75 dias. Já Calderaro (2008) observou que não houve diferença estatística significativa entre os substratos plantmax, vermiculita e serragem, apresentando, respectivamente, de 58%, 69% e 64% de sobrevivência dos explantes de jambú. Apesar destes autores terem obtido porcentagem de sobrevivência satisfatória, estudos adicionais são necessários para incrementar a sobrevivência para a espécie.

Diferente dos trabalhos anteriores, que micropropagaram o jambú por organogênese direta, Sampaio et al. (2018) obtiveram sucesso na micropropagação de cumaru (*Dipteryx odorata*) por organogênese indireta. Utilizaram como explantes epicótilo e hipocótilo de plântulas germinadas *in vitro*. Os autores verificaram maior formação de calos em meio MS suplementado com 8,0 mg/L⁻¹ de TDZ combinado com 1,5 mg/L⁻¹ ANA, além de brotos. No entanto, em meio WPM suplementado com 2,0 mg/L⁻¹ de BAP e 2,4-D induziu o maior número médio de múltiplos brotos adventícios por organogênese indireta.

Outro fator imprescindível no sucesso da propagação *in vitro* é a utilização do meio de cultura adequado. O meio de cultivo é composto essencialmente de macro e micronutrientes, vitaminas, aminoácidos, carboidratos e mio-inositol (Davey & Anthony, 2010). O mesmo deve propiciar condições adequadas ao crescimento e desenvolvimento *in vitro* do tecido vegetal (Cordeiro et al., 2014). Existem formulações distintas que devem ser ajustadas para cada espécie. O meio MS (Murashige & Skoog, 1962), e suas diluições são, frequentemente, as mais utilizadas. No entanto existem outros meios que podem responder melhor para algumas espécies como é o caso do meio WPM (Wood Plant Medium) (Lloyd e McCown, 1981) e o meio B5 (Gamborg et al., 1968).

Para testar o efeito dos meios de cultivo MS e WPM no estabelecimento *in vitro* de explantes de cedro-branco (*Quassia amara*) planta com uso medicinal (Tabela 1), Silva (2015) utilizou plântulas de sementes germinadas *in vitro*. O meio MS apresentou maior altura dos brotos, maiores taxas de multiplicação, enraizamento e de calogênese diferindo significativamente do meio WPM. No entanto, não apresentaram diferenças significativas para o número de brotos e número de segmentos nodais por broto.

O enraizamento *in vitro* varia de acordo com a espécie estudada, isso pode ocorrer naturalmente durante o processo de micropropagação, de modo que o uso de reguladores de crescimento nos meios de cultura pode ser evitado (George e Sherrington, 1984).

Outra planta medicinal com estudos de micropropagação é a sacaca (*Croton cajucara* Benth.), as folhas são utilizadas para chá (Tabela 1). É produtora do linalol, composto aromático com potencial econômico de interesse para as indústrias de perfumarias, cosméticos e de produtos de limpeza. A sacaca é apontada como potencial substituta do pau-rosa (*Aniba roseodora*) por também produzir o linalol e por esta última encontrar-se ameaçada de extinção (Azevedo et al., 2013). Para o estabelecimento *in vitro* desta espécie, Silva et al. (2015) utilizaram brotações apicais (microestacas com gema única) provenientes de indivíduos coletados no campo. Verificou-se que 1,8 mg/L⁻¹ de BAP em meio MS, promoveu 58,9% das microestacas com brotação, após 30 dias de cultivo. Além disso, Silva et al. (2015) também relataram que a adição de 3,0 mg/L⁻¹ de BAP e 0,5 mg/L⁻¹ de GA₃ no meio de cultura promoveu melhorias na multiplicação *in vitro* desta espécie.

O sucesso na assepsia e estabelecimento dos explantes *in vitro*, primeira etapa da micropropagação, é um dos principais fatores que garantem o sucesso da técnica. Pela literatura consultada, muitos dos estudos com micropropagação de plantas medicinais na Amazônia ainda concentram-se nessa fase. Araújo et al. (2010) testaram a desinfestação de segmentos nodais de camu-camu (*Myrciaria dúbia* (H. B. K) com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (0,5; 1,0; 1,5 ou 2,0% do princípio ativo) e tempos de imersão (5, 10, 15 ou 20 min). Os autores verificaram que a menor concentração testada, ou seja, 0,5% de hipoclorito de sódio por 10 minutos foi mais eficiente na desinfestação que as maiores concentrações.

Já Alves et al. (2018) também realizaram assepsia de sementes e segmentos nodais de pedra-hume-caá (*Eugenia punicifolia* (Kunth) D.C.) e verificaram que a imersão em solução de derosal 1% por 1 hora, álcool 70% por 1 minuto e solução de 1% de hipoclorito de sódio por 30 minutos foi mais eficiente para desinfestar ambos os tipos de explantes. Estes autores atribuem ao fato de

que o aumento da concentração de cloro ativo faz com que ocorra o aumento de pH da solução desinfestante.

Estudos neste sentido também foram realizados com a andiroba (*Carapa guianensis* Aublet), que apresenta usos medicinais múltiplos, seja do uso da casca da madeira e flores ou do óleo extraído das sementes. O óleo é usado como repelente de insetos e no tratamento de artrite, distensões musculares e alterações dos tecidos cutâneos (Ferraz et al., 2002; Loureiro et al., 1979) e o chá da casca e das flores é usado como remédio para combater infecção bacteriana e o chá do cerne como fungicida (Ferraz et al., 2002) (Tabela 1).

Considerando a importância desta espécie, Brandão (2011), por meio da aplicação exógena de reguladores de crescimento, verificou que o tratamento com 5 ml/L⁻¹ do fungicida derosal por 24h e 500 mg/L⁻¹ de ampicilina possibilitou o estabelecimento satisfatório dos explantes de andiroba com valores de 84%, 88% e 100% dos explantes testados

Outros trabalhos foram realizados para controlar a assepsia e o estabelecimento *in vitro* de plantas medicinais nativas da Amazônia, com camucamu (*Myrciaria duhia* (H.B.K) Mc vaugh) (Kikuchi et al., 2002), jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf) (Sabá et al., 2002), guaraná (*Paullinia cutana* (Mart.) Ducke (Barbosa & Moraes, 2004)

De modo geral, verificou-se que a maioria dos estudos com micropropagação de plantas medicinais nativas da Amazônia utilizam plantas estabelecidas *in vitro* a partir de sementes como fonte de explantes e não a planta matriz cultivada em boas condições fitossanitárias em ambiente protegido. Explantes provenientes de planta matriz em seu habitat natural são mais difíceis de controlar a assepsia e realizar o estabelecimento *in vitro*. Os estudos de micropropagação com plantas medicinais da Amazônia são ainda incipientes uma vez que a maioria só estabeleceu a cultura asséptica e não testaram ou obtiveram sucesso no ajuste de protocolo para todas as etapas da micropropagação.

Cultura de calos, suspensões e biorreatores na produção de metabólitos secundários *in vitro*

Dentre as técnicas de culturas de tecidos vegetais, destaca-se a calogênese, que consiste na formação de massas celulares indiferenciadas, denominados calos (Piassi e Piassi, 2016). Essa técnica tem sido amplamente explorada na produção de metabólitos secundários de interesse medicinal de espécies nativas brasileiras (Kerbauy, 1997; Simões et al., 2012; Simões-Gurgel et al., 2012). Alguns calos são compactos e crescem vagarosamente, outros são friáveis e mais difíceis de manipular (Flores et al., 2006). Calos friáveis, os quais apresentam pouca coesão celular, são os mais indicados para induzir a síntese de metabólitos secundários *in vitro*. O aumento da produção de metabólitos secundários pode ser estimulado por fatores bióticos ou abióticos, sendo a composição salínica do meio de cultivo e o uso de fitorreguladores, fatores essenciais (Iwase et al., 2013).

A indução de calos depende do balanço hormonal intermediário de auxinas e citocininas (Nogueira et al., 2007). Dentre as principais auxinas utilizadas para indução de calos destacam-se o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), o ácido 4-amino-3,5,6-tricloropicolínico (picloram) e o ANA (Heijden et al., 1986; Lewinsohn et al., 1994; Mathur et al., 2010; Giri et al., 2012).

Zanotti et al. (2012) avaliaram a indução de calos em explantes foliares de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf) (Tabela1). Testaram os meios MS e WPM e obtiveram maiores frequências de calos primários em meio MS suplementado com 15µM de BAP e 5 µM de 2,4-D. Estes autores relataram que a suplementação do meio MS apenas com BAP resultou em maior oxidação, enquanto que no meio WPM suplementado com este regulador não resultou na formação de calos em explantes foliares de copaíba. Neste trabalho os autores não realizaram classificação dos calos obtidos, já que os calos friáveis são os principais para a produção de metabólitos secundários em suspensões celulares.

De modo semelhante, Barboza et al. (2014) também obtiveram melhores resultados para calos friáveis em hipocótilos de biribá (*Annona mucosa* Jacq.) na associação entre picloram (auxina) e TDZ (citocinina). Porém, diferente do estudo anterior em meio WPM, os calos apresentaram maior massa fresca e seca, com médias de 3,3803g e 0,1692g; respectivamente. Para explantes

foliares, parecido com o que foi observado por Zanotti et al. (2012) a melhor resposta foi alcançada em meio MS acrescido conjuntamente de 10 μM de picloram e 0,1 μM de KIN, com peso seco médio de 0,164g. Já na ausência de picloram, os autores verificaram que não houve formação de calos. Esse fitorregulador atua na modificação da parede celular vegetal de modo direto, na síntese ou degradação de componentes, ou de maneira indireta, induzindo a diferenciação e proliferação celular (Alayón-Luaces et al., 2012). Esta auxina tem se mostrado eficiente para a manutenção do crescimento de calos e estabelecimento de culturas de células em suspensão em várias espécies, em concentrações menores que outras auxinas (George et al., 2008; Ling et al., 2008).

Para o estabelecimento de calos a partir de explantes foliares de elixir paregórico (*Piper permucronatum* Yuncker) espécie utilizada com fins medicinais (Tabela 1), Guimarães (2015), obteve indução de calos friáveis em 100% dos explantes, na concentração de 1,0 mg/L^{-1} de 2,4-D juntamente com 1,0 mg/L^{-1} de BAP cultivados em meio $\frac{1}{2}$ MS. A atividade do 2,4-D foi comprovada ao observar que nos tratamentos sem este regulador não ocorreu indução e nos tratamentos com BAP isoladamente, houve diminuição de oxidação e escurecimento dos calos.

Rebouças (2009) em estudo com explantes foliares de insulina vegetal (*Cissus sicyoides* L.) e obtiveram maior formação de calos friáveis em meio de cultivo MT (Murashige e Tucker, 1969) suplementado apenas com 12,0 mg/L^{-1} de BAP, com média de 2,70. Porém não houve diferença significativa desta concentração em relação as concentrações de 2,0 e 6,0 mg/L^{-1} . No entanto, o processo de desinfestação feito com álcool etílico a 70% por 2 minutos e hipoclorito de sódio por 15 minutos, mostrou-se pouco eficiente no estabelecimento *in vitro* da espécie obtendo elevada porcentagem de contaminação, cerca de 92%.

Rocha (2014) por outro lado, obteve 100% de indução de calos em todas as concentrações de BAP a partir de explantes foliares de *Cissus verticillata* L., também conhecida como insulina vegetal, em meio MS. A utilização de BAP isoladamente, em todas as concentrações, resultou em indução e crescimento de calos. A concentração de 4,0 mg/L^{-1} de BAP promoveu 100% da área foliar

coberta por células de calos. No entanto, este autor utilizou outro agente desinfestante. Os segmentos foliares foram imersos em etanol 70% (v/v) por 1 minuto e em solução de hipoclorito de cálcio 5,0% (v/v) por 30 minutos.

As auxinas são muito utilizadas para promover o crescimento de calos, porém as citocininas também desempenham um papel importante na calogênese (Remotti e Loffler, 1995).

Em estudos sobre o jenipapo (*Genipa americana* L.) (Tabela 1), Almeida et al. (2015) relataram a formação de calos em segmentos nodais e foliares inoculados em meio MS com 18,10 e 36,20 μ M de 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético) na presença de 7,86 μ M de BAP para explantes foliares. Para a regeneração *in vitro* de jenipapo, Oliveira et al. (2017) observaram que na ausência de ANA o percentual de regeneração foi de 40% com aumento até 70% em resposta à presença deste regulador. As sementes foram obtidas de frutos maduros e tiveram seus embriões excisados e inoculados em meio MS contendo 4,44 μ M de BAP e diferentes concentrações de ANA (0,0; 1,07; 2,14 e 3,21 μ M). Verificou-se redução no comprimento da parte aérea com o aumento da concentração de ANA, resultou em maior crescimento (30,83mm) na ausência deste fitohormônio. A organogênese direta não foi observada, mas o aumento progressivo das concentrações de ANA com 4,44 μ M BAP resultou em um número considerável de plântulas com formação compacta de calos nos explantes.

Apesar de não ser o caminho preferido para a regeneração de plantas, a formação de calos tem sido a base para estudos relacionados à embriogênese somática e produção *in vitro* metabólitos secundários (Nogueira et al., 2007). Sobre a cultura de suspensões celulares refere-se ao cultivo de células isoladas ou pequenos aglomerados, dispersos em um meio líquido, sob agitação contínua, para evitar possíveis gradientes nutricionais e gasosos no meio de cultura (Souza & Santos, 2007). Além da produção de metabólitos secundários, a suspensão celular também tem aplicabilidade nas áreas de bioquímica, fisiologia vegetal, fitopatologia e genética de plantas (Furden et al., 2005; Torres et al., 1998). É necessário eleger as diferentes linhagens de calos de acordo com a sua competência celular para garantir uma produção eficaz do metabólito de interesse. Para isso, cada calo deve ser testado separadamente, para avaliar a

velocidade de seu crescimento, bem como as concentrações intracelulares e extracelulares do metabólito. Isto permite uma avaliação da produtividade de cada linhagem celular para que somente as linhagens mais produtoras sejam utilizadas nos estudos de células em suspensão ou biorreatores (Fumagali et al., 2008).

De acordo com Scott et al. (1981) □ Verpoorte & Maraschin (2001) as células em suspensão constituem um bom material biológico para estudos de rotas biossintéticas. Quando comparado às culturas de calos, as células em suspensão permitem a recuperação de grandes quantidades de células das quais as enzimas podem ser facilmente isoladas. Sobre o cultivo de suspensões celulares de plantas medicinais nativas da Amazônia não foram encontrados estudos nas bases de dados consultadas.

Outra técnica utilizada para aumentar a síntese de princípios ativos a partir de plantas são os biorreatores de imersão temporária (BIT) que podem ser definidos como equipamentos que visam à aceleração e multiplicação de organismos, reduzindo os custos de produção (Guerra et al., 2016). Essa ferramenta tem sido utilizada com sucesso para a propagação *in vitro* de plantas medicinais (Preil, 2005).

Por permitir o cultivo em larga escala de plantas e órgãos à baixo custo, tornou-se uma alternativa atrativa para a produção de metabolitos secundários. Neste sentido, esse sistema tem sido descrito para cultura *in vitro* de algumas espécies de plantas medicinais, como *Lavandula officinalis* Chaix (Wilkenet al., 2005), *Mentha spicata* L. (Tisserat & Vaughn, 2008), *Saccharum officinarum* L. (Yang et al., 2010), *Camptotheca acuminata* Decne (Sankar-Thomas & Lieberei, 2011), *Leocojum aestivum* L. (Schumann et al., 2012). Porém, alguns dos problemas enfrentados com a utilização de biorreatores estão relacionados com altos níveis de contaminação, oxidação e hiperidricidade de explantes (Ribeiro & Bastos, 2008).

No caso de plantas medicinais nativas da Amazônia, há poucos estudos voltados a essa técnica. Um deles foi realizado com ipeca (*Psychotria ipecacuanha*), em que Batistine et al. (2002) verificaram neste sistema melhor de brotação e maior altura do explante quando comparados com o sistema de cultivo em meio de cultura semissólido. Outro estudo nesse sentido foi realizado por

Malosso (2007), com segmentos nodais de jambu inoculados em BIT do tipo RITA contendo meio de cultivo líquido MS acrescido de 0,1 mg/L de KIN.

Verificou-se que esse sistema promoveu 100% de brotação dos explantes em 15 dias de cultivo. Porém, uma bactéria endofítica contaminou o sistema e causou morte de todos os explantes. Segundo Barros et al. (2011) a utilização desta técnica reduz significativamente o uso de mão de obra, chegando até 30% do gasto total. Entretanto, esse sistema ainda é pouco difundido nos laboratórios de cultura de tecidos de plantas.

Embriogênese somática

Embriogênese somática é o processo pelo qual, através da técnica de cultivo *in vitro*, células isoladas ou um pequeno grupo de células somáticas dão origem a embriões somáticos, sem ocorrer fecundação assemelhando-se à sequência de eventos representativos da embriogênese zigótica (Tautorus et al, 1991). O processo de indução, primeira etapa da embriogênese somática depende, dentre outros fatores, do genótipo, tipo e estágio de desenvolvimento do explante e da composição do meio de cultura (Litz et al., 1998).

Essa técnica destaca-se como importante via para a regeneração de plantas e oferece vantagens sobre o melhoramento convencional. A embriogênese somática pode disponibilizar linhagens de células para a engenharia genética, regeneração de uma estrutura bipolar provenientes de grupos de células, produção em larga escala de plantas geneticamente idênticas, homogeneidade, estudos básicos funcional e molecular, produção de sementes sintéticas e a conservação de recursos genéticos através da criopreservação (Pinto et al. 2010; Yan & Zhang, 2010; Xu & Huang et al., 2014).

A baixa porcentagem de indução de embriões somáticos e a baixa porcentagem de conversão de embriões maduros em plantas completas são as principais limitações dos sistemas de embriogênese somática desenvolvidos para várias espécies vegetais.

Faria et al. (2016) obtiveram sucesso na regeneração por embriogênese somática em maracujá (*Passiflora cristalina* Vanderplank e Zappi), utilizando embriões zigóticos para indução. Após 20 dias de cultivo, foram evidenciadas células potencialmente embriogênicas em todos os tratamentos utilizando 2,4-D

e 4,43 μM de BAP cultivados em meio MS basal. Aos 60 dias de cultivo na ausência de reguladores de crescimento, embriões somáticos cotiledonares diferenciaram-se nas concentrações de 27,14 μM de 2,4-D combinado a 4,43 μM de BAP com uma média de 51,66 embriões. Durante a fase de maturação dos embriões somáticos ocorreu formação de raízes correspondendo a médias de 34 raízes para 18,09 μM de 2,4-D com 4,45 μM de BAP e também foi observado a produção de brotações adventícias com 15,66 brotações. A combinação desses reguladores, em particular, para as Passifloráceas atua de forma sinérgica na indução e na desdiferenciação da embriogênese somática (Rosa et al., 2015). De acordo com Yang (2010) combinação entre auxinas e citocininas para muitas espécies de plantas são necessárias para induzir a embriogênese somática.

Em trabalho com unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*), espécie medicinal nativa da Amazônia utilizada para diversos fins (Tabela 1), Maciel et al. (2009) verificaram 2,4-D e TDZ na indução da embriogênese somática utilizando ápice caulinar inoculados em meio $\frac{1}{2}$ MS. Os autores observaram que o TDZ foi bastante promissor na formação de calos embriogênicos, sendo mais expressivo em altas concentrações, como 10 μM e o 2,4-D foi mais eficiente para formação de estruturas de calos friáveis. Em contrapartida, Angelo et al. (2010) utilizaram reguladores de crescimento diferentes do estudo anterior para a formação de calos de guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*). Conseguiram resultados efetivos com 0,3mg/L⁻¹ de BAP juntamente 3,0mg/L⁻¹ de AIA. Porém, estes calos não eram embriogênicos para a desinfestação de explantes, indução e manutenção.

Pela literatura consultada foram encontrados apenas três trabalhos que realizaram embriogênese somática com plantas medicinais nativas da Amazônia e somente um obteve sucesso na regeneração. Não só para plantas medicinais, os estudos referentes a embriogênese somática com espécies da Amazônia são raros, existindo para as frutíferas, como o açaí (*Euterpe oleraceae*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e tucumã (*Astrocaryum aculeatum*). Portanto, faz-se necessário estudos mais aprofundados sobre os fatores que influenciam na embriogênese somática para plantas da Amazônia e em especial plantas medicinais.

Cultura de embriões zigóticos

A cultura de embriões zigóticos apresenta inúmeras aplicações, dentre as quais a recuperação de híbridos raros, testar a viabilidade de sementes, obter variedades para serem exploradas a curto prazo e obtenção de material como fonte de explantes. (Giacometti, 1990; Hu & Ferreira, 1999). Neste último caso, os embriões são considerados fontes de explantes que apresentam baixos índices de contaminação (Pierik, 1997; Hu & Ferreira, 1998). Outro aspecto importante, principalmente associado com espécies ameaçadas de extinção, está relacionado a germinação *in vitro* de embriões zigóticos, uma vez que é possível a criopreservação e posterior resgate como alternativa de manter a ampla variedade genética. Por meio do cultivo *in vitro* pode-se determinar as necessidades nutricionais e fisiológicas dos embriões; superar a dormência em certos tipos de sementes em virtude da imaturidade do embrião ou da presença de substâncias inibidoras no endosperma (Henao, 1991; Pierik, 1997; Hu & Ferreira, 1998).

O pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke), apresenta importantes propriedades medicinais (Tabela 1). Além do linalol, óleo essencial, que apresenta importância industrial. Sobre o seu cultivo *in vitro*, Handa et al. (2005) verificaram que o hipoclorito de sódio (50% e 2% de cloro ativo) por 10 min não foi eficiente na assepsia, apresentando contaminação por fungos (19%) e bactérias (3%). Pereira et al. (2006) realizaram estudo sobre a germinação *in vitro* de embriões zigóticos de murmuru (*Astrocaryum ulei* Mart.), espécie com grande potencial de uso na indústria de cosméticos e para uso medicinal (Tabela 1). Testaram embriões obtidos de frutos imaturo e maduro e concentrações de sacarose (15, 30 e 45 g/L⁻¹) no meio de cultura MS com 75% das concentrações de sais, suplementado com 2,5 g/L⁻¹ de GA₃. Estes autores verificaram que embriões de frutos imaturos com a concentração de 30 g/L⁻¹ de sacarose apresentaram maior porcentagem de germinação, de 85,9% enquanto aqueles de frutos maduros, 15 g/L⁻¹ de sacarose no meio foi suficiente para que se alcançasse os melhores índices de germinação. Segundo García et al. (2002) embriões de muitas espécies utilizam suas próprias reservas para germinação, dispensando ou necessitando de adição de baixas concentrações de carboidratos.

Na tentativa de estabelecer um protocolo de germinação e cultivo *in vitro* de murici (*Byrsonima cydoniifolia* A. Juss.), espécie potencial para alimentação, madeira e medicina popular (Tabela 1), Martendal et al., (2013) a partir de embriões zigóticos de frutos maduros, relataram que para obter embriões assépticos a imersão de 1 minuto em álcool 70% e 25 minutos em hipoclorito de sódio (2,5%) foi adequado para evitar contaminação, não sendo fitotóxico para o embrião de murici. Testaram também o crescimento de plântulas nos meios de cultivo MS e WPM nas concentrações de sais de 25, 50 e 100%, com e sem a adição de sacarose. Para a germinação dos embriões, o meio 100% WPM produziu o menor número de folhas por muda, porém na concentração com 50% dos sais favoreceu crescimento de plântulas. De acordo com os autores a adição de sacarose em diferentes concentrações no meio de cultura foi importante para o aumento da taxa de germinação que variou entre 45 e 95%.

Estes trabalhos mostram que o cultivo de embriões zigóticos pode ser usada para fins de micropropagação, pela sua natureza juvenil com alto potencial regenerativo, assim como embriões são excelentes explantes para propagação clonal *in vitro* (Hu & Ferreira, 1998). Porém para espécies nativas amazônicas o cultivo de embriões *in vitro* ainda é pouco difundido.

CONCLUSÃO

As técnicas de cultura de tecidos são amplamente utilizadas em estudos envolvendo plantas medicinais, com destaque na micropropagação, que tem aquecido os mercados e vem promovendo a criação de novas biofábricas, empregos e tecnologias. Entretanto, essas técnicas, tanto no Brasil, inclusive na região Amazônica, são escassas e esporádicas, principalmente em relação ao número de empresas, laboratórios e grupos de pesquisas voltados para essa área.

Apesar da maioria dos trabalhos serem feitos até o estabelecimento *in vitro*, a germinação tem alcançado resultados importantes, permitindo além de outras conquistas, a superação da dormência em reduzido espaço de tempo. Porém, de acordo, com o levantamento realizado foi possível verificar que para plantas medicinais nativas da região Amazônica, esses estudos ainda são

incipientes, considerando que essa região abriga a maior biodiversidade do planeta

Ressalta-se, ainda, a necessidade de mais estudos sobre fatores, muitas vezes pouco explorados, como a fase aclimação, que analisa adaptação das plantas em condições ambientais.

Mais trabalhos devem ser voltados à embriogênese somática, técnica que proporciona, além de outros fatores, a produção em larga escala de mudas que, até o momento, apresenta poucos estudos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAYÓN-LUACES, P. et al. Compositional changes in cell wall polysaccharides from apple fruit callus cultures modulated by different plant growth regulators. **Plant Science**, v.186, n.1, p.169175, 2012.

ALMEIDA, C.S. et al. Morphogenetic responses of jenipapo in different *in vitro* culture conditions. **Revista Caatinga**, v.28, n.1, p.58- 64, 2015.

ALVES, J.R.; LIMA, E.S.; BARBOSA, E.P.; MALOSSO, M.G. Assepsia de sementes e segmentos nodais de *Eugenia punicifolia* (Kunth) D.C. de genótipos da Amazônia brasileira e avaliação das taxas de germinação *in vitro* e *ex vitro* das sementes desta planta medicinal. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. vol. 7, n.3, p.56-68, 2018.

ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n.3, p.464-471, 2007.

ANGELO, P.C.S.; MORAES, L.A.C.; SOUSA, N.R.; QUISEN, R.C. indução de *calli* em explantes de guaranazeiro visando a embriogênese somática. **Revista Brasileira Agrociência**. v.16, n.14, p.133-137, 2010.

ARAÚJO, M.C.R.; CHAGAS, E.A.; COUCEIRO, M.A.; DONINI, L.P.; PIO, R.; SCHWENGBER, J.A.M.; CASTRO, A.M.; ARAÚJO W.F. Desinfestação *in vitro* de segmentos nodais de camucamu, 2010.

ARIKAT, A.N.; JAWAD, M.F.; KARAM, S.N.; SHIBLI, A.R. Micropropagation and accumulation of essential oils in wild sage (*Salvia fruticosa* Mill.). **Scientia Horticulturae**. v.100, p.193-202. 2004.

BARBOSA, C.B.; MORAES, L.A.C.R. **Estabelecimento de protocolo para cultivo in vitro do guaraná (*Paullinia cutana* (Mart.) Ducke)**, JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTIFICA DA EMBRAPA MAZONIAORIENTAL. 1, 2004.

BARBOZA, T.J.S.; LAGE, D.A.; MOSS, V. B.; SOUZA, C.A.; ALBARELLO, N. Efeito de diferentes meios nutritivos e fitorreguladores visando à otimização da calogênese de *Annona mucosa* (Jacq.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.16, n.4, p.905-911, 2014.

BARROS, A.C.B.; COSTA, D.A.; MEDEIROS, E.C. Biorreator de imersão temporária aplicado na biofabricação de cana-de-açúcar. In: GERALD, L.T.S. (Org.). **Biofábrica de plantas: produção industrial de plantas in vitro**. 1º ed. São Paulo: Atiqua, p.52-69, 2011.

BATISTINE, A.P.; MORO, J.R.; FRANÇA, S.C.; PEREIRA, A.M.S. Avaliação de diferentes sistemas de cultivo *in vitro*, para a micropropagação de *Psychotria ipecacuanha* (Brots.) Stokes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.5, n.1, p.27-35, 2002.

BOTTA, B. et al. Cultura de tecidos vegetais: doze anos de experiência. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. Chapecó: Argos, 2001, p.354-79.

BRANDÃO, H.L.M.; **Propagação in vitro de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet), breu branco (*Protium spruceanum* Benth.), copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne) e pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke)**. 2011. 97p. Dissertação (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

CALDERARO, T.S. **Propagação vegetativa in vitro a partir de segmentos nodais de jambú (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen)**. 2008. 70p. Dissertação (Mestrado – Área de Concentração em Plantas Nativas e Potenciais Usos) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M. LEWIS, N.G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN B. GRUISSEM W. JONES R. (Eds.) **Biochemistry e Molecular Biology of Plants**, **Rockville**: American Society of Plant Physiologists, p.1250-1318, 2000.

DAVEY, M.R.; ANTHONY, P. **Plant cell culture: essential methods**. Singapore: Markono print media pte. 321p, 2010.

DESCHAMPS, C. **Propagação vegetativa in vitro de Sarandi (*Sebastiania schottiana* MUELL. ARG.), espécie florestal de mata ciliar**. 1993. 128p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Tipo de luz na multiplicação in vitro de framboeseira (*Rubus idaeus* L). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.27, p.448-490, 2005.

FARIA, R.B.; **Sistemas de regeneração de novo a partir da organogênese e embriogênese somática em *Passiflora cristalina* Vanderplank e Zappi, Passifloraceae - Uma espécie da Amazônia Meridional**. 2016. 121p. Dissertação (Mestrado – Área de concentração em Genética e Melhoramento) - Universidade do estado de Mato Grosso, Tangara da Serra.

FERRAZ, I.D.K.; CAMARGO, J.L.C; SAMPAIO, P.T.B. Sementes e plântulas de andiroba (*Carapa guianensis* AUBL. e *Carapa procera* D. C.): aspectos botânicos, ecológicos e tecnológicos. **Acta Amazonica**. v. 32, p.647-661, 2002.

FIRMO, W.C.A.; MENEZES, V.J.M.; PASSOS, C.E.C.; DIAS, C.N.; ALVES, L.P.L.; DIAS, I.C.L.; NETO, M.S.; OLEA R.S.G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Caderno de Pesquisa**. v.18, n.especial, p.90-95, 2011.

FLORES, R.; NICOLOSO, F.T.; VASCONCELLOS, N.J.S. Indução de calos e aspectos morfogênicos de *Pfaffia tuberosa* (Spreng.) Hicken. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.3, p.89-95, 2006.

FRANÇA, I.S.X.; SOUZA, J.A.; BAPTISTA, R.S.; BRITTO, V.R.S. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p. 201-208, 2008.

FUMAGALI, E., GONÇALVES, R.A.C., MACHADO M.F.P.S.; VIDOTI, G.J.; OLIVEIRA, A.J.B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p.627-641, 2008.

- FURDEN, B.V.; HUMBURG, A.; FUSS, E. Influence of methyl jasmonate on podophyllotoxin and 6-methoxypodophyllotoxin accumulation in *Linum album* cell suspension cultures. **Plant Cell Reports**, v.24, p.312-317, 2005.
- GARCÍA, J.L.; TRONCOSO, J.; SARMIENTO, R.; TRONCOSO, A. Influence of carbon source and concentration on the *in vitro* development of olive zygotic embryos and explants raised from them. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.69, p.95-100, 2002.
- GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, v. 50, n.1, p. 151-158, 1968.
- GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P.D. Plant propagation by tissue culture. **Eversley: Exegetics**, 1984. 709 p.
- GEORGE, E.F. et al. Plant propagation by tissue culture. 3.ed. Dordrecht: Springer, 2008. 520p.
- GIACOMETTI, D.C. Impacto atual da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPACNPB, p.19-28, 1990.
- GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. **Apostila de biotecnologia** - CCA/UFSC. Ed. da steinmacher, 15p. Florianópolis, 2006.
- GUIMARAES, M. C. M. **Estudo da calogênese, dinâmica de crescimento de calos e estabelecimento de suspensões celulares de *Piper permucronatum***. 2015. 46p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Ambiente, Saúde e Sustentabilidade) - Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho.
- HANDA, L.; SAMPAIO, P.T.B.; QUISEN, R.C. Cultura *in vitro* de embriões e de gemas de mudas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke). **Acta amazônica**. vol.35, p.29-33, 2005.
- HENAO, L.M.M. **Cultivo de tejidos vegetales**. Medellin: Universidad Nacional de Colômbia. 77p. 1991.
- HU, C.Y.; FERREIRA, A.G. Cultura de embriões. In: Torres, A. C.; Caldas, L. S. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa – SPI/Embrapa – CNPH, 1998. p.371-393.
- HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. Cultura de embriões. In: TORRES, A. T.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa/SPI, 1998. p. 371-393.
- HUSSAIN, A., QARSHI, I.A., NAZIR, H., ULLAH, I. Plant tissue culture: current status and opportunities. In: LEVA, A., RINALDI, L.M.R. **Recent advances in plant *in vitro* culture**: 1º ed. Croácia: InTech, 2012, p. 210.
- IWASE, A.; IKEUCHI, M.; SUGIMOTO, K. Plant callus: mechanisms of induction and repression. **The Plant Cell**, v.25, n.1, p.3159-3173, 2013.
- KERBAUY, G.B. Clonagem de plantas *in vitro*. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v.1, n.1, p.30-33, 1997.
- KIKUCHI, T.Y.P.I.; NUNES, H.C.B.; MOTA, M.G.C.; RIBEIRO, S.I.; VIEIRA, I.M.S. Produção de plântulas *in vitro* a partir de diferentes explantes de sementes camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K)Mc vaugh), 2002.
- KOMALAVALLI, N.; RAO, M.V. *In vitro* micropropagation of *Gymnema sylvestre* - A multipurpose medicinal plant. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.61, n.2, p.97- 105, 2000.

LEWINSOHN, T.M.; PRADO, P.I. **Biodiversidade brasileira**: síntese do estado atual do conhecimento. São Paulo: Editora Contexto, 2002. 176 p.

LING, O.S.; KIONG, A.L.P.; HUSSEIN, S. Establishment and optimisation of growth parameters for cell suspension cultures of *Ficus deltoidea*. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, v.2, n.1, p.38-49, 2008.

LOPES, C.R. et al. **Folhas de chá**. Viçosa: UFV, 2005.

LOUREIRO, A.A.; SILVA, M.F.; ALENCAR, J.C. **Essências Madeireiras da Amazônia**. vol.2 Inpa/Suframa, Manaus, 1979.

LOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmialatifolia*, by use of shoot-tipculture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v. 30, p. 421-427, 1980.

MALOSSO, G.M. **Micropropagação de *Acmella oleracea* L. R. K. Jansen e estabelecimento de meio de cultura para a conservação desta espécie em banco de germoplasma *in vitro***. 2007. 103p. Dissertação (Doutorado – Área de Concentração Agroflorestal) - Universidade Federal do Amazonas, Coari.

MAMEDES, T.C.; SILVA, S.A. **Cultivo *in vitro* de explantes de *Dipteryx alata***. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E JORNADA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO. 8, 2010, Goiás.

MACIEL, S.A.; BITTENCOURT, D.M.C.; RAPOSO, A. **Efeito das auxinas 2,4-D e TDZ na indução da embriogênese somática em *Uncaria tomentosa* a partir de ápice caulinar**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS E CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS. 17, 2009, Aracajú.

MARTENDAL, C.O.; BERNARDINO, M.M.; PEREIRA, F.D.; SILVA, F.G.; MENEZES, C.C.E.; HARA, A.C.B.A.M. *In vitro* cultivation of zygotic embryos from murici (*Byrsonima cydoniifolia* A. Juss.): establishment, disinfection, and germination. **Acta Scientiarum**. v.35, n.2, p.221-229, 2013.

MORAIS, T.P.; LUZ, J.M.Q.; SILVA, S.M.; RESENDE, R.F.; SILVA, A.S. Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.14, n.1, p.110-121, 2012.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473- 497, 1962.

NOGUEIRA, R.C.; PAIVA, R.; OLIVEIRA, L.M.; SOARES, G.A.; SOARES, F.P.; CASTRO, A.H.F.; PAIVA, P.D.O. Indução de calos em explantes foliares de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.2, p.366-370, 2007.

OLIVEIRA, A.C.A.; MACHADO, C.A.; OLIVEIRA L.A.R.; SILVA, A. V. C.; LÉDO, A. S. *In vitro* morphogenic response from zygotic embryos of *Genipa americana*. **Ciência Rural**, v.47, p.10, 2017.

OLEIVEIRA, L. S.; DIAS, P. C.; BRONDANE, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa florestal brasileira**, v. 33, N. 76, p. 439-453, 2013.

PEREIRA, R.C.A.; PINTO, J.E.B.P.; REIS, E.S.; CORRÊA, R.M.; BERTOLLUCI, S.K.V. Influência de diferentes auxinas na indução e cinética de crescimento de calos de *Uncaria guianensis* J. F. Gmel. (unha-de-gato). **Plant Cell Culture Micropropagation**. v.3, n.2, p.69-77, 2007.

PEREIRA, J.E.S.; MACIEL, T.M.S.; COSTA, F.H.S.; PEREIRA, M.A.A. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de mururu (*Astrocaryum ulei*). **Embrapa - Centro de Pesquisa Agroflorestal do Acre**, 2006.

- PIERIK, R.L.M. *In vitro Culture of Higher Plants*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 348 p. 1997.
- PINTO, A. P. C.; MONTEIRO-HARA, A. C. B.; STIPP, L. C. L.; MENDES, B. M. J. In vitro organogenesis of *Passiflora alata*. **In Vitro Cellular e Developmental Biology-Plant**, 46: 28-33. 2010.
- RAO, S.; RAVISHANKAR, G.A. Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v.20, p.101-153, 2002,
- REBOUÇAS, F.S. **Cultivo in vitro de plantas medicinais: *Ocimum basilicum* L. e *Cissus sicyoides* L.** 2009. 70p. Dissertação (mestrado – Área de Concentração em Fitotecnia.) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.
- REMOTTI, P.C.; LÖFFLER, H.J.M. Callus induction and plant regeneration from gladiolos. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.42, p.171-8, 1995.
- RIBEIRO, J.M.; BASTOS, D.C. **Biorreatores: aspectos gerais e sua utilização para cultura de tecidos vegetais**. EMBRAPA Semi Árido. Petrolina, 2008.
- ROCHA, J. F.; **Indução de calos em explantes foliares de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis.** 2014. 42p. Dissertação - (Mestrado - Área de concentração em Ambiente, Saúde e Sustentabilidade) – Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho.
- ROSA, Y. B. C. J.; BELLO, C. C. M.; DORNELAS, M. C. Species-dependent divergent responses to in vitro somatic embryo induction in *Passiflora* spp. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. 120: 69-77, 2015.
- SABÁ, R.T; LAMEIRA, O.A.; LUZ, J.M.Q.; GOMES, A.P.; INNECCO, R. Micropropagação do jaborandi. **Horticultura Brasileira**. v. 20, n1, p.106-109, 2002.
- SAMPAIO, P.T.B.; JARDIM, L.S.; BLIND, A.D.; BRUNO, F.M.S. Induction of callus and adventitious shoots on epicotyl and hypocotyl segments of cumaru (*Dipteryx odorata*). **Science with quality**. p.475-480, 2018.
- SANTOS, A.S.; ARAÚJO, S.F.; GOULART, H.F.; CAETANO L.C.; ARRUDA, M.S.P.; SANTOS, L.S.; SANTA'ANA, A.E.G. A dehydrorotenoid produced by callus tissue culture and wild plant roots of *Boerhaavia coccinea*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.17, p.538-541, 2007.
- SCOTT, A.I.; LEE, S.L.; CULVER, M.G.; WAN, W.; HIRATA, T.; GUÉRITTE, F.; BAXTER, R.L.; NORDLÖV, H.; DORSCHHELL, A.; MIZOKAMI, H.; MACKENZIE, N.E. Biosynthesis of indole alkaloids. **Heterocycles**, v.15, p.1257-1274, 1981.
- SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G.; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3ªed. Florianópolis: Ed. da UFRGS/UFSC, 2000. p.301-332.
- SHUKLA, S. K.; SHARMA, P.; SWARUP, R. Impact of national certification system for tissue culture raised plants (ncs-tcp) on Indian plant tissue culture industry: a unique quality management system for commercial plant tissue culture. **Journal of Biotechnology e Biomaterials**, v.2, p.6-58, 2012.
- SILVA, S. Estabelecimento e desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae). **Scientia Amazonia**, v.4, n.2, p.92-99, 2015.

SILVA, T.L.; PEREIRA, M.A.A.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J.E. Propagação *in vitro* de sacaca (*Croton cajucara* Benth.): entendimentos sobre a dificuldade no desenvolvimento de protocolos de micropropagação da espécie. **Biotemas**, v.28, p.41-50, 2015.

SILVA, D. **Micropropagação de *Caesalpinia ferrea* Martius**. 2015. 58p. Dissertação (Mestrado – Área de Concentração Biotecnologia e Recursos Naturais) - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus.

SIMÕES, C. et al. Production of anthocyanins by plant cell and tissue culture strategies. In: ORHAN, I.E. **Biotechnological production of plant secondary metabolites**. 1.ed. Sharjah: Bentham, 2012. p.67-86.

SIMÕES-GURGEL, C. et al. Antibacterial activity of field-grown plants, in vitro propagated plants, callus and cell suspension cultures of *Cleome rosea* Vahl. **Journal of Pharmacy Research**. v.5, n.1, p.3304- 3308, 2012.

SOUZA, K. C. A.; SANTOS, H.A. Biotecnologia aplicada ao estudo da lignificação. **Floresta e Ambiente**. v.14, n.1, p. 93-109. 2007.

TAUTORUS, T.E.; LULSDORF, M.M.; KIKCIO, S. I.; DUNSTAN, D.I. Bioreactor culture of *Picea mariana* Mill. (black spruce) and the species complex *Picea glaucaengelmannii* (interior spruce) somatic embryos. Growth parameters. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.38, p.4651, 1992.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A.; (Eds). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, v.1, 1998, 509p.

VERPOORTE, R.; MARASCHI, M. Engenharia do metabolismo de plantas medicinais. In: YUNES R.A.; CALIXTO J.B. (orgs.) **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001. p. 381- 432.

VIEIRA, M.L.C. **Conservação de germoplasma**. 2009.

VILLAREAL, M.L.; ARIAS, C.V.J.; FERIA-VELASCO, A.; RAMIREZ, O.T.; NICASIO, P. R. G.; QUINTERO, R. Cell suspension culture of *Solanum chrysotrichum* - a plant producing an antifungal spirostanol saponin. **Plant Cell Tiss Culture**. v.50 p.39-44, 1997.

XU, L.; HUANG, H. Genetic and epigenetic controls of plant regeneration. **Current Topics in Developmental Biology**. 108: 1-33, 2014

ZANOTTI, R.F.; SARTOR, F.R.; PÔSSA, K.F.; PILON, A.M.; FUKUSHIMA, C.H. Germinação e indução da calogênese *in vitro* de copaíba. **Centro Científico Conhecer**, v.8, n.15; p. 986, 2012



ISSN 1516-0572 *versão impressa*
ISSN 1983-084X *versão on-line*

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Escopo e política](#)
- [Forma e preparação de manuscritos](#)
- [Envio de manuscritos](#)

Este periódico foi descontinuado na coleção SciELO em 04/2017.
Os dados abaixo são de 04/2017 estão desatualizados.

Escopo e política

A **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais - RBPM** é publicação trimestral, exclusivamente eletrônica a partir de 2012, e destina-se à divulgação de trabalhos científicos originais, revisões bibliográficas, e notas prévias, que deverão ser inéditos e contemplar as grandes áreas relativas ao estudo de plantas medicinais. Manuscritos que envolvam ensaios clínicos deverão vir acompanhados de autorização da Comissão de Ética pertinente para realização da pesquisa. Os artigos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol, sendo obrigatória a apresentação do resumo em português e em inglês, independente do idioma utilizado. Os artigos devem ser enviados por e-mail: rbpm.sbp@gmail.com, com letra Arial 12, espaço duplo, margens de 2 cm, em "Word for Windows". Os artigos, em qualquer modalidade, não devem exceder 20 páginas. No e-mail, enviar telefone para eventuais contatos urgentes.

Para a publicação, os artigos aprovados submetidos à RBPM a partir de 1º de Abril de 2013 (inclusive), terão custo de tramite de 300 reais (trezentos reais) a ser efetivado pelos autores/responsáveis somente na ocasião do recebimento da carta de aceitação do artigo, quando receberão o respectivo boleto e instruções para o pagamento.

Forma e preparação de manuscritos

REVISÕES BIBLIOGRÁFICAS E NOTAS PRÉVIAS

Revisões e Notas prévias deverão ser organizadas basicamente em: Título, Autores, Resumo, Palavras-chave, Abstract, Key words, Texto, Agradecimento (se houver) e Referência Bibliográfica.

Atenção especial deve ser dada aos artigos de Revisão evitando a citação Ipsi-litteris de textos, que configura plágio por lei.

ARTIGO CIENTÍFICO

Os artigos deverão ser organizados em:

TÍTULO: Deverá ser claro e conciso, escrito apenas com a inicial maiúscula, negrito, centralizado, na parte superior da página. Se houver subtítulo, deverá ser em seguida ao título, em minúscula, podendo ser precedido de um número de ordem em algarismo romano. Os nomes comuns das plantas medicinais devem ser seguidos pelo nome científico (binômio latino e autor) entre parênteses.

AUTORES: Começar pelo último sobrenome dos autores por extenso (nomes intermediários somente iniciais, sem espaço entre elas) em letras maiúsculas, 2 linhas abaixo do título. Após o nome de cada autor deverá ser colocado um número sobrescrito que deverá corresponder ao endereço: instituição, endereço da instituição (rua e número ou Caixa Postal, cidade, sigla do estado, CEP, e-mail). Indicar o autor que

deverá receber a correspondência. Os autores devem ser separados com ponto e vírgula.

RESUMO: Deverá constar da mesma página onde estão o título e os autores, duas linhas abaixo dos autores. O resumo deverá ser escrito em um único parágrafo, contendo objetivo, resumo do material e método, principais resultados e conclusão. Não deverá apresentar citação bibliográfica.

Palavras-chave: Deverão ser colocadas uma linha abaixo do resumo, na margem esquerda, podendo constar até cinco palavras.

ABSTRACT: Apresentar o título e resumo em inglês, no mesmo formato do redigido em português, com exceção do título, apenas com a inicial em maiúscula, que virá após a palavra ABSTRACT.

Key words: Abaixo do Abstract deverão ser colocadas as palavras-chave em inglês, podendo constar até cinco palavras.

INTRODUÇÃO: Na introdução deverá constar breve revisão de literatura e os objetivos do trabalho. As citações de autores no texto deverão ser feitas de acordo com os seguintes exemplos: Silva (1996); Pereira & Antunes (1985); (Souza & Silva, 1986) ou quando houver mais de dois autores Santos et al. (1996).

MATERIAL E MÉTODO (CASUÍSTICA): Deverá ser feita apresentação completa das técnicas originais empregadas ou com referências de trabalhos anteriores que as descrevam. As análises estatísticas deverão ser igualmente referenciadas. Na metodologia deverão constar os seguintes dados da espécie estudada: nome popular; nome científico com autor e indicação da família botânica; nome do botânico responsável pela identificação taxonômica; nome do herbário onde a exsicata está depositada, e o respectivo número (Voucher Number); época e local de coleta, bem como, a parte da planta utilizada.

RESULTADO E DISCUSSÃO: Poderão ser apresentados separados, ou como um só capítulo, contendo a conclusão sumarizada no final.

AGRADECIMENTO: deverá ser colocado neste capítulo (quando houver).

REFERÊNCIA: As referências devem seguir as normas da ABNT 6023 e de acordo com os exemplos:

Periódicos:

AUTOR(ES) separados por ponto e vírgula, sem espaço entre as iniciais. Título do artigo. **Nome da Revista, por extenso**, volume, número, página inicial-página final, ano.

KAWAGISHI, H. et al. Fractionation and antitumor activity of the water-insoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. **Carbohydrate Research**, v.186, n.2, p.267-73, 1989.

Livros:

AUTOR. **Título do livro**. Edição. Local de publicação: Editora, Ano. Total de páginas.

MURRIA, R.D.H.; MÉNDEZ, J.; BROWN, S.A. **The natural coumarins:** occurrence, chemistry and biochemistry. 3.ed. Chinchester: John Wiley & Sons, 1982. 702p.

Capítulos de livros:

AUTOR(ES) DO CAPÍTULO. Título do Capítulo. In: AUTOR (ES) do LIVRO. **Título do livro:** subtítulo. Edição. Local de Publicação: Editora, ano, página inicial-página final.

HUFFAKER, R.C. Protein metabolism. In: STEWARD, F.C. (Ed.). **Plant physiology: a treatise**. Orlando: Academic Press, 1983. p.267-33.

Tese ou Dissertação:

AUTOR. **Título em destaque:** subtítulo. Ano. Total de páginas. Categoria (grau e área de concentração) - Instituição, Universidade, Local.

OLIVEIRA, A.F.M. **Caracterização de Acanthaceae medicinais conhecidas como anador no nordeste do Brasil**. 1995. 125p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Botânica) - Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Trabalho de Evento:

AUTOR(ES). Título do trabalho. In: Nome do evento em caixa alta, número, ano, local. **Tipo de publicação em destaque...** Local: Editora, ano. página inicial-página final.

VIEIRA, R.F.; MARTINS, M.V.M. Estudos etnobotânicos de espécies medicinais de uso popular no Cerrado. In: INTERNATIONAL SAVANNA SYMPOSIUM, 3., 1996, Brasília. **Proceedings...** Brasília: Embrapa, 1996. p.169-71.

Publicação Eletrônica:

AUTOR(ES). Título do artigo. **Título do periódico em destaque**, volume, número, página inicial-página final, ano. Local: editora, ano. Páginas. Disponível em: <<http://www.....>>. Acesso em: dia mês (abreviado) ano. PEREIRA, R.S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista de Saúde Pública**, v.38, n.2, p.326-8, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 18 abr. 2005.

Não citar resumos e relatórios de pesquisa, a não ser que a informação seja muito importante e não tenha sido publicada de outra forma. Comunicações pessoais devem ser colocadas no rodapé da página onde aparecem no texto e evitadas se possível. Devem ser também evitadas citações do tipo: Almeida (1994) citado por Souza (1997).

TABELAS: Devem ser inseridas no texto, com letra do tipo Arial 10, espaço simples. A palavra TABELA (Arial 12) deve ser em letras maiúsculas, seguidas por algarismo arábico; já quando citadas no texto devem ser em letras minúsculas (Tabela).

FIGURAS: As ilustrações (gráficos, fotográficas, desenhos, mapas) devem ser em letras maiúsculas seguidas por algarismo arábico, Arial 12, e inseridas no texto. Quando citadas no texto devem ser em letras minúsculas (Figura). As legendas e eixos devem ser em Arial 10, enviadas em arquivos separados, com resolução 300 DPI, 800x600, com extensão JPG ou TIFF, para impressão de publicação.

Processo de avaliação: Os manuscritos são analisados por, pelo menos, dois pareceristas, segundo um roteiro de análise baseado principalmente no conteúdo científico. Os pareceristas recomendarão a aceitação com ou sem necessidade de retornar; recusa, ou sugerir reformulações, e que, neste caso, o artigo reformulado retornará ao parecerista até que a avaliação seja concluída. Quando no mínimo 2 pareceristas aprovarem, sem necessidade de retornar, o artigo estará pronto para ser publicado e o autor receberá a carta de aceite bem como as instruções para pagamento dos custos de tramite (R\$300 reais)*. Os nomes dos pareceristas permanecerão em sigilo, omitindo-se também perante estes os nomes dos autores.

* Somente os artigos aprovados que foram submetidos a partir de 1º de abril de 2013 terão custo para publicação.

Direitos autorais: Ao encaminhar um manuscrito para a RBPM os autores devem estar cientes de que, se aprovado para publicação, o

copyright do artigo, incluindo os direitos de reprodução em todas as mídias e formatos, deverá ser concedido exclusivamente para as Memórias.

ATENÇÃO: Artigos que não estiverem de acordo com essas normas serão devolvidos.

Observação: São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos. Contudo, reserva-se ao Conselho Editorial, o direito de sugerir ou solicitar modificações que julgarem necessárias.

Envio de manuscritos

Os artigos devem ser enviados por e-mail: rbpm.sbp@gmail.com

[\[Home\]](#) [\[Sobre a revista\]](#) [\[Corpo editorial\]](#) [\[Assinaturas\]](#)



Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma [Licença Creative Commons](#)

CPQBA-UNICAMP
Divisão de Agrotecnologia - CPQBA
13.148-218-Paulinia-SP - Brasil
Tel.: (55 19) 2139-2891
Fax: (55 19) 2139-2852



rbpm.sbp@gmail.com